

**PENGARUH TERAPI BUAH PARE (*Momordica charantia* L)
TERHADAP CD4 DAN CD8 PADA MENCIT BALB/C YANG
DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh:

DINA ABSHARINA WULANDARI

NIM. 17910026



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH TERAPI BUAH PARE (*Momordica charantia* L)
TERHADAP CD4 DAN CD8 PADA MENCIT BALB/C YANG
DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana
Kedokteran (S.Ked)**

**Oleh:
DINA ABSHARINA WULANDARI
NIM. 17910026**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

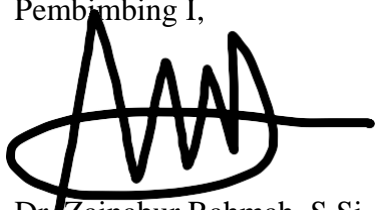
**PENGARUH TERAPI BUAH PARE (*Momordica charantia* L)
TERHADAP CD4 DAN CD8 PADA MENCIT BALB/C YANG
DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh:
DINA ABSHARINA WULANDARI
NIM. 17910026

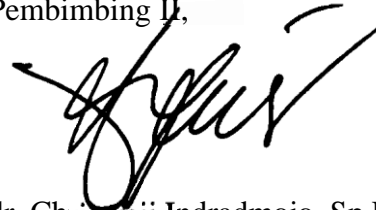
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 17 Juni 2021

Pembimbing I,



Dr. Zainabur Rahmah, S.Si., M.Si
NIDT. 19810207201701012122

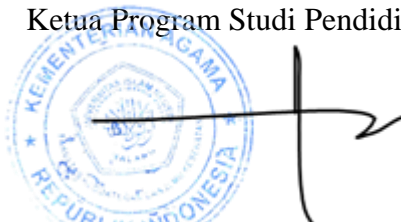
Pembimbing II,



dr. Christyaji Indradmojo, Sp.EM
NIP. 19770611 2009121004

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



Dr. Ana Rahmawati, M.Biomed
NIP. 97412032009122001

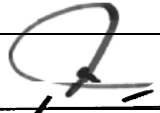
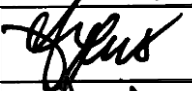
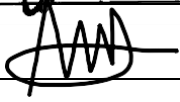
**PENGARUH TERAPI BUAH PARE (*Momordica charantia* L)
TERHADAP CD4 DAN CD8 PADA MENCIT BALB/C YANG
DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh:
DINA ABSHARINA WULANDARI
NIM. 17910026

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Tanggal: 17 Juni 2021

Penguji Utama	<u>dr. Nurfianti Indriana, Sp. OG</u> NIP. 198406072019032006	
Ketua Penguji	<u>dr. Christyaji Indradmojo, Sp. EM</u> NIP. 197706112009121004	
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Zainabur Rahmah, S.Si, M.Si</u> NIDT. 19810207201701012122	

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



Dr. Ana Rahmawati, M.Biomed
NIP. 97412032009122001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dina Absharina Wulandari

NIM : 17910026

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan, data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,

A 10,000 Rupiah Indonesian postage stamp (Meterai Tempel) with a signature over it. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'SPULUH RIBU RUPIAH', '10000', 'METERAI TEMPEL', and the serial number '9909AJX32489555'.

Dina Absharina Wulandari
NIM. 17910026

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan judul : “Pengaruh Terapi Buah Pare (*Momordica Charantia* L.) terhadap CD4 Dan CD8 pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*” sebagai langkah awal untuk menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih seiring do'a dan harapan, *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M. Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes, Sp.Rad(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. dr. Ana Rahmawati, M.Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Zainabur Rahmah, S.Si., M.Si dan dr. Christyaji Indradmojo, Sp.EM selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak memberikan waktu, ilmu, bimbingan dan arahan yang sangat berarti sehingga penulis dapat berkembang menjadi pribadi yang lebih baik seiring berjalannya penulisan tugas akhir ini.

5. Dr. Nurfianti Indriana, Sp. OG, selaku dosen penguji skripsi, yang telah banyak memberikan waktu, ilmu, bimbingan dan arahan yang sangat berarti sehingga penulis dapat berkembang menjadi pribadi yang lebih baik seiring berjalannya penulisan tugas akhir ini.
6. Papa, Mama, dan Kakak tercinta yang senantiasa tak pernah lelah dalam memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
7. Ika dan Fida, teman seperjuangan yang selalu ada baik suka maupun duka terutama selama penulisan tugas akhir ini.
8. Teman – teman tersayangku, Selusin (Ana, Angel, Annisa, Dinda, Gita, Fani, Melia, Nuri, Regina, Tasya, Zeza), Rida, Ines, dan Juwita yang selalu mendukung penulis dimanapun dan kapanpun.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam proses penyusunan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan yang memerlukan kritik serta saran untuk penyempurnaan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca dan bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 15 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Malaria	9
2.1.1 Definisi dan Etiologi	9
2.1.2 Parasit <i>Plasmodium</i>	10
2.1.2.1 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	10
2.1.2.2 Mekanisme <i>Plasmodium</i> Bertahan Hidup	11
2.1.3 Patofisiologi dan Manifestasi Klinis	12
2.1.4 Terapi.....	14
2.1.4.1 Terapi Farmakologi	14
2.1.4.2 Terapi Herbal	17
2.1.5 Resistensi Obat Antimalaria	18
2.2 Hepar	19
2.2.1 Anatomi Hepar.....	19

2.2.2 Fisiologi Hepar	20
2.2.3 Histologi Hepar	21
2.2.4 Patologi Hepatik pada Malaria	21
2.3 CD4 dan CD8	22
2.3.1 CD4.....	22
2.3.1.1 Definisi dan Klasifikasi	22
2.3.1.2 Asal dan Lokasi CD4	23
2.3.1.3 Peran CD4.....	23
2.3.1.4 Aktivasi CD4.....	24
2.3.2 CD8.....	24
2.3.2.1 Definisi.....	24
2.3.2.2 Asal dan Lokasi CD8	25
2.3.2.3 Peran CD8.....	25
2.3.2.4 Aktivasi CD8.....	25
2.3.3 Respon CD4 dan CD8 pada Malaria	26
2.4 Pare (<i>Momordica charantia</i>)	28
2.4.1 Taksonomi	28
2.4.2 Morfologi	29
2.4.3 Manfaat.....	30
2.4.4 Kandungan	31
2.4.4.1 Flavonoid.....	31
2.4.4.2 Terpenoid	32
2.4.4.3 Alkaloid	32
2.5 Hewan Coba	33
2.5.1 Hewan Coba Mencit	35
2.6 Kerangka Teori Penelitian	36
 BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	 37
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	37
3.2 Hipotesis Penelitian	39
 BAB IV METODE PENELITIAN	 40

4.1 Desain Penelitian	40
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	40
4.3 Populasi Penelitian	41
4.4 Sampel Penelitian	41
4.4.2 Kriteria Eksklusi	42
4.4.3 Besar Sampel	42
4.4.4 Teknik Pengambilan Sampel	43
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	43
4.5.1 Perawatan Mencit	43
4.5.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>) ..	43
4.5.3 Inokulasi <i>Plasmodium berghei</i>	43
4.5.4 Pengukuran Derajat Parasitemia	44
4.5.5 Pemberian Ekstrak Buah Pare	44
4.5.6 Pengambilan Sampel Hepar (Pembedahan Mencit)	44
4.5.7 Metode Imunohistokimia	44
4.6 Definisi Operasional	45
4.7 Prosedur Penelitian	45
4.7.1 Sampel Mencit	45
4.7.2 Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>)	46
4.7.3 Infeksi <i>Plasmodium berghei</i> galur ANKA	46
4.7.4 Pembuatan Apusan Darah Tipis dan Pengecatan Giemsa	47
4.7.5 Pemberian Ekstrak Buah Pare	47
4.7.6 Pengambilan Sampel Hepar (Pembedahan mencit)	47
4.7.7 Pembuatan Slide Histologi	48
4.7.7.1 Proses Pemotongan Jaringan berupa Makros	48
4.7.7.2 Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan	48
4.7.7.3 Proses Deparafinisasi	48
4.7.8 Pemeriksaan CD4 dan CD8 pada Organ Hepar	49
4.7 Alur Penelitian	50
4.9 Analisis Data	51
 BAB V HASIL PENELITIAN	 52

5.1	Karakteristik Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.
5.2	Analisis Pengaruh Pemberian Terapi Ekstrak Pare (<i>Momordica charantia</i>) terhadap Ekspresi CD4 dan CD8 pada Mencit yang Diinfeksi <i>Plasmodium Berghei</i>	Error! Bookmark not defined.
5.2.1	Hasil Analisis Deskriptif Rata – Rata Ekspresi CD4 dan CD8 pada Mencit yang Diinfeksi <i>Plasmodium Berghei</i> Berdasarkan Pemberian Ekstrak Pare (<i>Momordica charantia</i>)	Error! Bookmark not defined.
5.2.2	Hasil Analisis Uji Normalitas Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (<i>Momordica charantia</i>) terhadap Ekspresi CD4 dan CD8 Mencit yang Diinfeksi <i>Plasmodium Berghei</i> ..	Error! Bookmark not defined.
5.2.3	Hasil Analisis Uji Homogenitas Ragam Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (<i>Momordica charantia</i>) terhadap CD4 dan CD8 Mencit yang Diinfeksi <i>Plasmodium Berghei</i> ..	Error! Bookmark not defined.
5.2.4	Hasil Analisis Uji Beda <i>One Way ANOVA</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (<i>Momordica charantia</i>) terhadap CD4 dan CD8 Mencit yang Diinfeksi <i>Plasmodium Berghei</i>	Error! Bookmark not defined.
5.2.5	Hasil Analisis Uji Lanjutan <i>Post-hoc Test</i> Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (<i>Momordica charantia</i>) terhadap CD4 dan CD8 Mencit yang Diinfeksi <i>Plasmodium Berghei</i>	Error! Bookmark not defined.
BAB VI PEMBAHASAN.....		53
6.1	Karakteristik Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.
6.2	Pengaruh Terapi Ekstrak Buah Pare Terhadap Ekspresi CD4 ..	Error! Bookmark not defined.
6.3	Pengaruh Terapi Ekstrak Buah Pare Terhadap Ekspresi CD8 ..	Error! Bookmark not defined.
6.4	Integrasi Penelitian dengan Kajian dalam Al-Quran dan Hadits ..	Error! Bookmark not defined.
6.5	Keterbatasan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN		54
7.1	Kesimpulan	54
7.2	Saran	54
DAFTAR PUSTAKA		55
LAMPIRAN.....		61

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Definisi Operasional.....	45
Tabel 5.1 Nilai Deskriptif CD4	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.2 Nilai Deskriptif CD8	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.3 Hasil Pengujian Normalitas Data CD4..	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.4 Hasil Pengujian Normalitas Data CD8..	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.5 Hasil Pengujian Homogenitas Data CD4	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.6 Hasil Pengujian Homogenitas Data CD8	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.7 Hasil Uji Beda One Way ANOVA Data CD4	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.8 Hasil Uji Beda One Way ANOVA Data CD8	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.9 Hasil Uji Post-Hoc Tamhane CD4	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5.10 Hasil Uji Post-Hoc Tamhane CD8	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1 Grafik Rerata Berat Badan Sampel Hewan Coba Selama Perlakuan..... **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5.2 Derajat parasitemia *Plasmodium berghei* galur ANKA mencit Balb/c **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5.3 Rerata derajat parasitemia mencit yang diinfeksi Plasmodium **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5.4 Ekspresi CD4 jaringan hepar mencit dengan pewarnaan imunohistokimia..... **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5.5 Ekspresi CD8 jaringan hepar mencit dengan pewarnaan imunohistokimia..... **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5.6 Grafik Deskriptif Ekspresi CD4 Tiap Perlakuan ... **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5. 7 Grafik Deskriptif Ekspresi CD8 Tiap Perlakuan .. **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5.8 Grafik Hasil Uji Post-Hoc Tamhane CD4 **Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5.9 Grafik Hasil Uji Post-Hoc Tamhane CD4 **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tabel Berat Badan dan Derajat Parasitemia Mencit.....	61
Lampiran 2 Analisis Pengaruh Pemberian Terapi Ekstrak Pare (<i>Momordica charantia</i>) terhadap Ekspresi CD4 dan CD8 pada Mencit yang Diinfeksi <i>Plasmodium Berghei</i>	62
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....	67

ABSTRAK

Wulandari, Dina Absharina, 2021. PENGARUH TERAPI BUAH PARE (*Momordica charantia* L) TERHADAP CD4 DAN CD8 PADA MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI PLASMODIUM BERGHEI. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Dr. Zainabur Rahmah, S.Si., M.Si (II) dr. Christyaji Indradmojo, Sp.EM

Kata Kunci: *Momordica charantia*, CD4, CD8, *Plasmodium berghei*

Infeksi *Plasmodium* dapat menyebabkan peningkatan CD4 dan CD8 abnormal akibat respon pertahanan diri sistem imun yang berlebihan dalam melawan parasit. Sistem imun dapat menjadi “pedang bermata dua” bagi sel host yang dapat mengarahkan pada kerusakan organ pada malaria berat. Buah pare (*Momordica charantia* L.) memiliki senyawa flavonoid, terpenoid, dan alkaloid yang bekerja sebagai anti-inflamasi dan imunoregulator dengan cara menghambat sitokin proinflamasi Th1 dan meningkatkan aktivitas IL-4 sehingga dapat menurunkan kadar CD4 dan CD8 yang berlebihan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah *M. charantia* terhadap kadar CD4 dan CD8 mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. 24 ekor mencit jantan dibagi dalam 4 kelompok sebagai berikut: Kelompok kontrol negatif (-) diinfeksi tanpa diberi terapi, kelompok perlakuan diinfeksi dan diberi terapi ekstrak buah *M. charantia* dengan dosis 0,25; 0,50; 1 mg/gBB/hari. Kelompok perlakuan diberi terapi selama 5 hari. Pada hari ke-8, mencit dibedah untuk diambil sampel hepar, kemudian dilakukan pengukuran kadar CD4 dan CD8 menggunakan metode imunohistokimia. Kadar CD4 dan CD8 dianalisa menggunakan *One-Way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada pemberian ekstrak buah pare terhadap ekspresi CD4 dan CD8 dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat menurunkan CD4 dan CD8 pada mencit Balb/c yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Dosis 1 mg/gBB dalam penelitian ini merupakan dosis yang optimal untuk menurunkan ekspresi CD4 dan CD8 pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

ABSTRACT

Wulandari, Dina Absharina, 2021. THE THERAPY EFFECTS OF BITTER MELON (*Momordica charantia* L.) ON CD4 AND CD8 IN BALB/C MICE INFECTED WITH PLASMODIUM BERGHEI. Thesis. Medical Education Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor: (I) Dr. Zainabur Rahmah, S.Si., M.Si (II) dr. Christyaji Indradmojo, Sp.EM

Keywords: *Momordica charantia*, CD4, CD8, *Plasmodium berghei*

Plasmodium infection can cause abnormal increases on CD4 and CD8 due to the immune system's excessive self-defense response against parasites. The immune system can be a "double-edged sword" for host cells that can lead to organ damage in severe malaria. Bitter melon (*Momordica charantia* L.) has flavonoid, terpenoid, and alkaloid compounds that work as anti-inflammatory and immunoregulatory agents by inhibiting Th1 proinflammatory cytokines and increasing IL-4 activity so that it can reduce excessive CD4 and CD8 levels. This study aimed to determine the effect of *M. charantia* fruit extract on CD4 and CD8 levels of Balb/c mice infected with *Plasmodium berghei*. 24 male mice were divided into 4 groups as follows: The negative control group (-) was infected without treatment, the treatment group was infected and treated with *M. charantia* fruit extract at a dose of 0.25; 0.50; 1 mg/gBW/day. The treatment group was given therapy for 5 days. On the 8th day, the mice were dissected for liver samples, then the CD4 and CD8 levels were measured using the immunohistochemical method. CD4 and CD8 levels were analyzed using One-Way ANOVA. The results showed that there was a significant difference in the administration of bitter melon extract on the expression of CD4 and CD8 with a significance value of 0.000 ($p < 0.05$). It can be concluded that bitter melon extract (*Momordica charantia* L.) can reduce CD4 and CD8 in Balb/c mice infected with *Plasmodium berghei*. The dose of 1 mg/gBW in this study was the optimal dose to reduce CD4 and CD8 expression in Balb/c mice infected with *Plasmodium berghei*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit infeksi menular yang masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Penyakit malaria telah menyumbang lebih dari 1,5 milyar kasus kematian sejak tahun 2000. Data global WHO (2020) menyebutkan dalam beberapa tahun terakhir, usaha global dalam mengurangi kejadian baru infeksi dan kasus kematian telah melambat yaitu kurang dari 2% pada tahun 2015 – 2019, dengan 58 kasus pada tahun 2015, turun menjadi 57 kasus pada tahun 2019 (per 1000 populasi). Anak-anak di bawah usia 5 tahun menyumbang dua pertiga (67%) kasus kematian global pada tahun 2019. Terdapat 229 juta kasus baru dan 409.000 kasus kematian di tahun 2019. Pada September 2019, WHO mengajak komunitas kesehatan global dalam “Tantangan Malaria”, yaitu dengan meningkatkan investasi penelitian dan pengembangan pada alat dan pendekatan baru dalam memerangi penyakit malaria, termasuk diagnostik baru, penelitian obat antimalarial yang efektif, kontrol vektor nyamuk dan pengembangan vaksin (WHO, 2019; WHO, 2020).

Malaria di Indonesia terutama di daerah terpencil masih menjadi masalah kesehatan yang diprioritaskan pemerintah untuk segera ditangani. Pemerintah Indonesia telah membentuk program “Menuju Indonesia Bebas Malaria” tahun 2030 sebagai upaya eliminasi Malaria di Indonesia menindaklanjuti program WHO tahun 2000 dan *World Health Assembly* (WHA) tentang eliminasi malaria bagi setiap Negara. Data menunjukkan bahwa 54% dari 497 Kabupaten/Kota di Indonesia masih merupakan wilayah endemis malaria dan diperkirakan 35%

penduduk Indonesia tinggal di daerah yang berisiko tertular malaria. (Astuti EP dkk, 2019; Depkes RI, 2018; Sandy dkk, 2019).

Situasi pandemi COVID-19 saat ini telah menyebar hingga ke daerah endemis malaria di Indonesia. COVID-19 dapat meningkatkan kejadian morbiditas dan mortalitas penyakit Malaria akibat terjadinya ko-infeksi antara COVID-19 dengan malaria. Kejadian malaria di era Pandemi tahun 2020 di beberapa daerah cenderung stagnan dan meningkat, seperti yang terjadi di Kabupaten Kepulauan Anambas, dimana terjadi peningkatan kasus malaria di sepanjang tahun 2020. Adaptasi layanan malaria perlu dilakukan untuk memastikan agar pelayanan dan pencegahan malaria tetap dapat berjalan di masyarakat dan juga sebagai upaya pencegahan KLB Malaria. Beberapa upaya telah dilakukan oleh pelayanan kesehatan mulai dari melaksanakan standar protokol pencegahan penularan COVID-19, diagnostik Malaria menggunakan RDT, manajemen kebutuhan OAM (Obat Anti Malaria), hingga modifikasi surveilans Malaria. Kemenkes RI (2021) menyebutkan bahwa kejadian malaria di Indonesia pada tahun 2021 mengalami penurunan signifikan dibandingkan pada tahun 2020, yaitu terdapat 226.364 kasus turun menjadi 75.502 kasus aktif malaria yang diambil hingga bulan Juni 2021 (Anonymous, 2020; Astuti EP dkk, 2019; Kemenkes RI, 2020; Kemenkes RI, 2021).

Insiden Malaria juga berdampak pada kegiatan Haji. Pada tahun 2017, tercatat 58 kasus Malaria pada Jamaah Haji yang berasal dari 8 Negara di luar Arab Saudi, karena Arab Saudi telah tergolong bebas malaria. Dua pasien masih dirawat sehingga berdampak pada kesanggupan mengikuti ibadah haji (Anonymous, 2017).

Penyakit malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* di dalam eritrosit yang ditularkan melalui perantara nyamuk betina

Anopheles. Plasmodium menginfeksi manusia dengan cara masuk melalui gigitan *Anopheles* dalam bentuk *sporozoit* menuju dermis kemudian menuju hepar. *Plasmodium* yang masuk akan mengaktifkan sistem imun baik innate maupun adaptif. *Plasmodium* yang terperangkap di paroksismal nodus limfe akan ditangkap oleh sel Dendritik, kemudian dipresentasikan kepada sel T CD4+. Pada fase ekstra-eritrositik di hepar, sel T CD8+ akan bereaksi secara langsung dengan mengeluarkan perforin dan granzyme untuk membunuh hepatosit yang terinfeksi, maupun tidak langsung dengan menginduksi aktivitas IFN- γ dan TNF. Namun, fase sporozoit ekstraeritrositik yang relatif cepat menyebabkan peran spesifik sel CD8+ (memori) lebih efektif pada paparan kedua. Peran sel T CD4+ pada fase ini belum sepenuhnya dipahami, namun diduga membantu aktivasi sel T CD8+ spesifik *Plasmodium*. Pada fase eritrositik, sel CD4+ Th1 akan mengeluarkan IFN- γ , dan CD4+ Th2 akan mengeluarkan IL-10 sebagai sitotoksik. IL-10 dapat memberi perlindungan dari malaria berat karena berperan sebagai anti-inflamasi dengan menghambat aktivitas sitokin lain. Sel CD4+ juga menghasilkan IL-4 dan menginduksi sel B dalam produksi antibodi. Sel T CD8+ tidak terlalu berperan pada fase ini (Harijanto, 2014; Perez-Mazliyah, 2015; Villarino dkk, 2013).

Respon imun selain berperan dalam membunuh parasit juga berkontribusi pada terjadinya penyakit malaria akibat respon inflamasi yang berlebihan. IFN- γ yang dihasilkan sel CD4 Th1 berperan dalam patologi fase eritrositik akut. Sel CD8 merupakan penyebab utama terjadinya malaria berat melalui mekanisme apoptosis. Sehingga dapat dikatakan, respon imun merupakan “pedang bermata dua” yang dapat melindungi sekaligus menimbulkan penyakit itu sendiri (Perez-Mazliyah, 2015; Wahyuniati N dkk, 2015).

Pengobatan malaria sendiri masih menjadi sebuah tantangan. Keefektifan vaksin malaria masih belum dapat terwujud dalam beberapa dekade ini. Manajemen kasus malaria masih bergantung pada obat antimalaria karena harganya yang murah dan mudah didapatkan. Bersama antipiretik, obat antimalaria terutama klorokuin merupakan obat paling umum di daerah tropis. Hal ini cenderung menyebabkan penyalahgunaan obat. Mayoritas populasi di daerah tropis terdeteksi konsentrasi klorokuin di dalam darah. Resistensi terhadap klorokuin merupakan masalah serius di Indonesia, Papua Nugini, dan daerah sekitarnya. Sejak tahun 2004, terapi kombinasi Artemisin (Artemisinin Combination Therapy-ACT) telah menjadi terapi utama malaria. Saat ini seluruh kelas obat antimalarial telah terbentuk resistensi, kecuali Artemisin, jika resistensi juga terbentuk pada Artemisin, kita mungkin akan menghadapi malaria yang tidak dapat diobati. Penelitian menggunakan kombinasi Artemisin dengan ekstrak tanaman yang mengandung Flavonoid memberikan hasil yang lebih efektif dalam menurunkan jumlah parasit karena akan meningkatkan kinerja Artemisin. Hal ini membuktikan ekstrak tanaman yang mengandung Flavonoid dapat dijadikan pengobatan pendamping obat utama (Veronica, 2020; White NJ, 2004).

Pare (*Momordica charantia* L.) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Tanaman pare memiliki berbagai nama lokal karena tersebar luas dan banyak dimanfaatkan di berbagai daerah di Indonesia walaupun memiliki rasa yang pahit. Di Jawa pare dikenal dengan nama paria atau pare, di Sulawesi disebut sebagai paria, poya, puentum pelia, dan pudu, sedangkan di Nusa Tenggara disebut sebagai paya, truwerk, paliak, dan pania. Buah pare yang pahit ini, oleh masyarakat Indonesia banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan, sayuran

dan obat – obatan. Pare diolah masyarakat Indonesia menjadi obat tradisional jamu untuk mengobati infeksi bakteri dan diabetes mellitus. Menurut Marewa RW (2015), tanaman paria yang tumbuh di Sulawesi dapat menjadi salah satu obat diabetes mellitus. Tanaman Pare juga banyak dimanfaatkan sebagai obat di berbagai belahan dunia. Di Guyana, pare dikonsumsi menjadi teh daun untuk mengobati diabetes, hepatitis, demam, dll. Teh daun Pare juga dikonsumsi di Panama dan Colombia untuk mengobati malaria. Konsumsi Pare dapat berupa rebusan, tablet, maupun tingtur (Ahmad N dkk, 2016; Dwijayanti DR, 2019; Gupta M dkk, 2011; Jagessar RC dkk, 2008; Kumar KPS dkk, 2010; Marewa RW, 2015; Susilawati dkk, 2014; Subahar TS dkk; 2004).

Tanaman diciptakan Allah SWT. memiliki kekayaan akan manfaat salah satunya sebagai obat. Allah SWT. berfirman dalam QS. Asy-Syuara ayat 7-8 yang artinya :

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman “ (Q.S. Asy-Syuara : 7-8)

Tumbuhan baik yang disebutkan dalam ayat tersebut adalah tumbuhan yang memiliki manfaat bagi makhluk hidup, termasuk tanaman obat. Pare merupakan salah satu tanaman baik karena memiliki berbagai manfaat yaitu sebagai sayuran juga sebagai bahan pengobatan. Ayat di atas juga menjelaskan secara tersirat bahwa sebagai umat Muslim kita harus mempelajari tanda – tanda kekuasaan Allah SWT. salah satunya dengan melakukan penelitian terkait manfaat tanaman sebagai bahan pengobatan (Muftikah DM, 2019).

Pare mengandung senyawa metabolit sekunder yang bervariasi. Buah pare mengandung protein, triterpens, saponins, flavonoids, alkaloid, dll. Berdasarkan hasil pengujian *in vitro* Susilawati dkk (2014), sampel ekstrak metanol buah pare memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan parasit *P. falciparum*. Penelitian *in vitro* Olasehinde GI dkk (2014) menyebutkan ekstrak pare bersifat sitotoksik terhadap *P. falciparum* yang dibuktikan dengan nilai IC₅₀ pada ekstrak yaitu 12,5 nM. Pada penelitian *in vivo* Swaminathan V (2014), ekstrak biji pare dapat menurunkan kerusakan sel hepar akibat Plasmodium. Penelitian Cunnick JE, dkk (1990) yang diuraikan dalam Ahmad N, dkk (2016) menyebutkan bahwa kandungan pada buah pare dapat memengaruhi kerja imun. Obat yang saat ini dipakai sebagai pengobatan malaria yaitu Dihidroartemisinin-Piperakuin (DHP) bekerja dengan mensupresi limfosit (Ahmad N dkk, 2016; Chekka dkk, 2020; Cunnick JE, 1990; Mustofa D dkk, 2019; Olasehinde GI, 2014; Subahar TS dkk, 2004; Susilawati dkk, 2014; Swaminathan V, 2011).

Konsumsi buah pare aman baik secara oral, sedangkan injeksi intravena lebih toksik dan tidak direkomendasikan. Kadar buah pare yang aman diberikan mencit pada penelitian bervariasi. Penelitian Evacuasiy E dkk (2005) dan Astuti Y dkk (2009) memberikan dosis berkisar antara 0,5 hingga 1 mg/gBB per hari, sedangkan penelitian oleh Parawansah dkk (2016) memberikan dosis buah pare berkisar antara 0,05 hingga 0,25 mg/gBB. Buah pare tidak direkomendasikan untuk ibu hamil atau yang merencanakan kehamilan karena mengandung antifertilitas yaitu momorcharin yang dibuktikan dengan penelitian terhadap mencit yang hamil (Ahmad N dkk, 2016; Astuti Y dkk, 2019; Evacuasiy E dkk, 2005; Parawansah dkk, 2016).

Penelitian terkait malaria dilakukan menggunakan model hewan pengerat yang diinfeksi *Plasmodium Berghei*. Mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dapat dilakukan manipulasi sehingga perubahan imunologis yang terjadi selama infeksi malaria dapat diamati. Amelya (2006) mengatakan bahwa *Plasmodium Berghei* memiliki kemiripan dengan *Plasmodium falciparum* pada manusia dan telah dibuktikan secara biomolekuler (Amelya P.S. Merry, 2006; Bagot S, 2002; Syaifudin M, 2018).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh terapi buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap CD4 dan CD8 pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium Berghei*.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Apakah terapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L) dapat menurunkan CD4 pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?

1.2.2 Apakah terapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L) dapat menurunkan CD8 pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?

1.2.3 Bagaimana perbandingan penurunan sel CD4 pada mencit yang tidak diterapi dengan mencit yang diterapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) ?

1.2.4 Bagaimana perbandingan penurunan sel CD4 pada mencit yang tidak diterapi dengan mencit yang diterapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L) yang digunakan sebagai terapi pendamping obat

standar malaria terhadap penurunan sel CD4 dan CD8 pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap penurunan sel CD4 pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap penurunan sel CD8 pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
3. Mengetahui perbandingan jumlah sel CD4 pada mencit yang tidak diterapi dengan mencit yang diterapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.).
4. Mengetahui perbandingan jumlah sel CD8 pada mencit yang tidak diterapi dengan mencit yang diterapi ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai tambahan informasi penelitian ilmiah khususnya di bidang kedokteran serta membuka wawasan berpikir dan sebagai dasar penelitian lanjutan terapi pendamping obat standar berbahan dasar buah Pare (*Momordica charantia*) sebagai antimalaria.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

1. Membantu mewujudkan program strategi eradikasi Malaria
2. Memberikan kontribusi dalam pengembangan sumber daya alam di bidang pengobatan herbal
3. Memberikan pilihan obat alternatif berbahan dasar herbal sebagai pendamping terapi farmakologi antimalaria.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malaria

2.1.1 Definisi dan Etiologi

Malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit protozoa genus *Plasmodium* yang menginvasi ke dalam eritrosit atau jaringan yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. (Harijanto PN, 2014; WHO, 2015)

Penyebab malaria adalah parasit *Plasmodium*, dengan taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Chromista
Filum	: Apicomplexa
Kelas	: Sporozoasida
Ordo	: Eucoccidiorida
Famili	: Plasmodidae
Genus	: Plasmodium

Terdapat lebih dari 100 spesies yang menyerang binatang seperti mamalia, reptil, dan burung, namun hanya 5 spesies yang dapat menginfeksi manusia. *P. falciparum* menyebabkan malaria tropika, *P. ovale* dan *P. vivax* menyebabkan malaria tertiana, *P. malariae* menyebabkan malaria quartana, dan penemuan baru menyebutkan *P. knowlesi* dapat menginfeksi manusia yang awalnya hanya menginfeksi monyet berekor panjang. *P. falciparum* merupakan penyebab terjadinya malaria berat (Harijanto PN, 2014).

2.1.2 Parasit *Plasmodium*

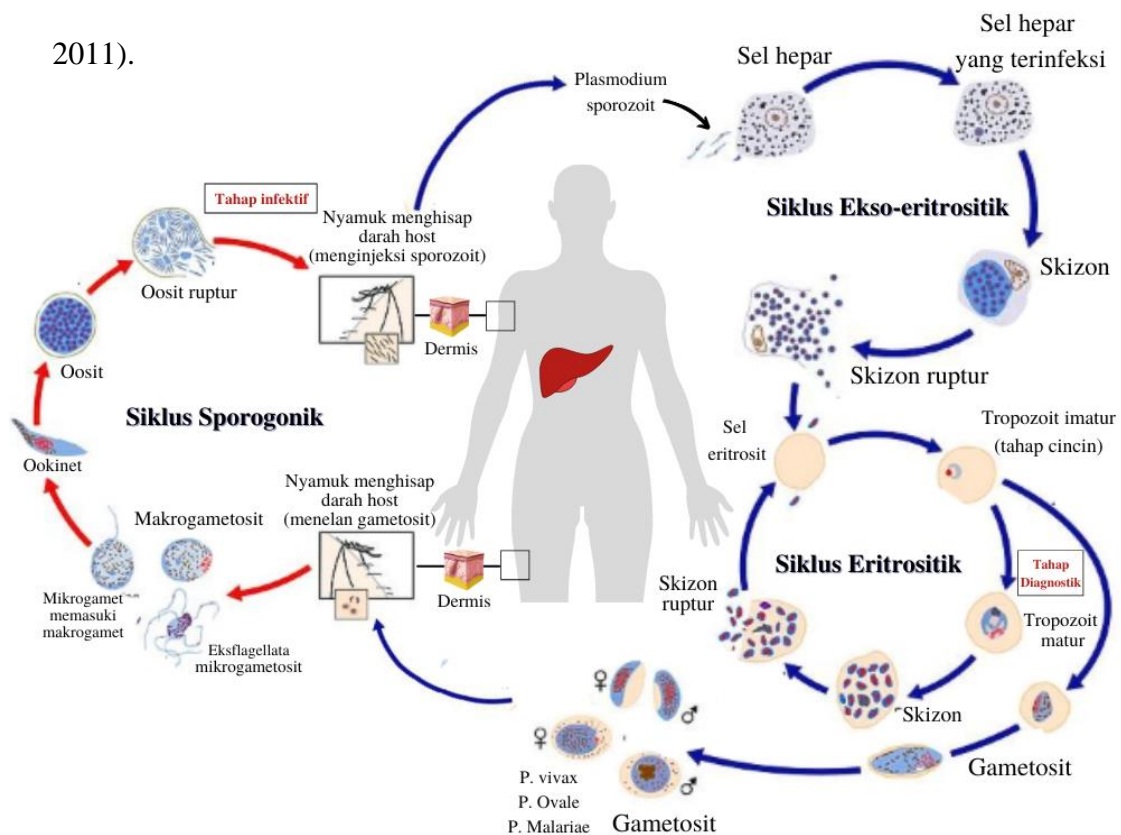
2.1.2.1 Siklus Hidup *Plasmodium*

Infeksi Malaria terjadi ketika *host* perantara *Anopheles* menggigit manusia dan terjadi pelepasan sporozoit dari saliva nyamuk menuju pembuluh darah manusia. Sporozoit yang berhasil hidup akan langsung menuju hepar dalam 45 menit. Di dalam sel parenkim hepar terjadi fase eksoeritrositik yaitu siklus aseksual dari sporozoit menjadi skizon hati kemudian pecah menjadi merozoit. Fase aseksual intrahepatik memerlukan waktu 5,5 hari pada *P. falciparum* dan 15 hari pada *P. malariae*. Skizon hati yang pecah akan mengeluarkan 10.000 – 30.000 merozoit ke aliran darah. Sebagian parasit *P. vivax* dan *P. ovale* akan membentuk hipnozoit (fase dorman) di dalam sel hepar. Hal ini dapat menyebabkan parasit tetap bertahan di dalam tubuh selama bertahun – tahun sehingga menyebabkan relaps (Harijanto PN, 2014; Sardjono TW & Fitri LE, 2011).

Merozoit yang dikeluarkan akan menuju sirkulasi darah dan menginvasi sel eritrosit. Fase ini disebut dengan intraeritrositik. Parasit tumbuh di dalam sel dengan memakan hemoglobin. Merozoit di dalam eritrosit berubah menjadi *ring form* dalam waktu kurang dari 12 jam. Bentuk eritrosit yang terinfeksi parasit akan lebih lonjong dan elastis. *Ring form* akan menjadi tropozoit, dan dalam 36 jam invasi akan menjadi skizon. Skizon akan pecah dan mengeluarkan 6-36 merozoit untuk menginvasi eritrosit lainnya. Total siklus aseksual ialah 48 jam pada *P. falciparum*, *P. vivax*, dan *P. ovale*, sedangkan lebih lama pada *P. malariae* yaitu 72 jam (Harijanto PN, 2014; Sardjono TW & Fitri LE, 2011).

Merozoit yang tidak melakukan pembelahan inti (aseksual) akan berdiferensiasi secara seksual membentuk mikrogametosit (gametosit jantan) dan

makrogametosit (gametosit betina). Proses ini disebut dengan proses gametogoni. Jika darah manusia dihisap oleh nyamuk, eritrosit yang terinfeksi akan ikut masuk ke dalam lambung nyamuk, namun hanya gametosit yang akan kembali bersiklus, yang disebut dengan siklus seksual sporogoni. Gametosit jantan dan betina akan membentuk zigot, yang kemudian berkembang menjadi ookinet, lalu ookista. Ookista akan menjadi sporozoit dan bermigrasi menuju kelenjar saliva nyamuk yang dapat menginfeksi manusia (Harijanto PN, 2014; Sardjono TW & Fitri LE, 2011).



Gambar 2.1 Siklus Hidup *Plasmodium*

Adaptasi dari *Global Health, CDC Division of Parasitic Diseases and Malaria* (2018)

2.1.2.2 Mekanisme *Plasmodium* Bertahan Hidup

Parasit yang masuk ke dalam sel host tidak akan terdeteksi oleh antibodi dan sel T CD8. Mekanisme aderensi juga dapat mencegah parasit terdeteksi oleh sel imun karena mencegah perjalanan menuju hepar dan limpa. Aderensi merupakan

peristiwa melekatnya protein yang ada pada permukaan sel eritrosit yang terinfeksi parasite (PfAMP pada *P. falciparum*) dengan protein permukaan sel epitel (Trombospondin, *Intercellular-adhesion Molecule-1/ICAM-1*, *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), dll) sehingga akan terbentuk plak karena penumpukan eritrosit di endotel pembuluh darah (Hisaeda H, 2005).

Parasit *Plasmodium* memiliki variasi gen yang dapat digunakan sebagai bentuk evasi sel imun terutama sel limfosit yang bekerja secara spesifik pada antigen. Sel limfosit T dan antibodi bekerja dengan mengenali epitope antigen spesifik, sedangkan *Plasmodium* dapat melakukan *switching* pada antigen yang diekspresikannya (Hisaeda H, 2005).

2.1.3 Patofisiologi dan Manifestasi Klinis

Menurut (Wibisono E dkk, 2014), patofisiologi pada infeksi malaria dapat di bagi menjadi :

1. Demam

Demam periodik berkaitan dengan siklus skizonogoni. Skizon matang yang pecah akan mengeluarkan antigen yang akan mengaktifkan makrofag, monosit, dan limfosit untuk memproduksi *Tumor Necrosis Factor* (TNF). TNF akan dibawa ke hipotalamus dan akan terjadi peningkatan *set-point* yang menyebabkan peningkatan suhu tubuh.

2. Anemia

Anemia pada malaria terjadi akibat dari banyak hal; pecahnya eritrosit akibat infeksi *Plasmodium*, eritropoiesis yang terhambat sementara, hemolisis karena kompleks imun dengan perantara komplemen,

eritrofagositosis, pengeluaran retikulosit yang terhambat, dan pengaruh sitokin.

Terganggunya fungsi organ juga terjadi pada Malaria. Abnormalitas fungsi hepar telah dilaporkan pada kasus malaria berat. Disfungsi sel hepatosit diduga terjadi akibat proses aderensi khususnya pada *P. falciparum* (McIntyre N, 2008).

Multiplikasi Plasmodium terjadi di dalam sel hepatosit dan sel eritrosit hingga terbentuk ribuan parasit. Kehadiran parasit memicu aktivasi sel – sel proinflamasi sehingga terjadi hipertrofi dan disfungsi sel – sel hepar. Kerusakan sel hepar menyebabkan terjadinya hepatomegali secara klinis. (Swaminathan V, 2011; Voorberg-van der Wel A dkk, 2021; Walters JH dkk, 1960).

Gejala prodromal malaria dapat berupa malaise, sakit kepala, lesu, demam ringan, sakit dan/atau merasa dingin di punggung, nyeri sendi dan tulang, anoreksia, sakit perut, diare ringan, dan kedinginan. Gejala klasik “Trias Malaria” yaitu periode dingin, panas, dan berkeringat (Harijanto PN, 2014).

Pada malaria berat manifestasi klinis dapat berupa gangguan neuropsikiatrik yang terjadi pada fase akut, sekuel, atau sindrom neurologi pasca malaria. Gejala yang menonjol pada fase akut yaitu kejang, psikosis, ataksia serebral, dll. Malaria berat dapat menyebabkan terjadinya penurunan kesadaran akibat tekanan pada intrakranial yang tinggi akibat edema otak. Penurunan kesadaran yang terjadi akibat suatu sindrom neurologis primer disebabkan oklusi arteri serebral (Mawuntu AH, 2018).

Menurut (Mawuntu AH, 2018), pada *P. falciparum* manifestasi klinis cenderung berat karena terjadi hipoksia akibat obstruksi maupun terganggunya sirkulasi darah, yaitu :

a. Sitoaderensi

Sitoaderensi merupakan peristiwa melekatnya eritrosit yang terinfeksi parasit (EP) stadium matur dengan permukaan endotel vaskular. EP memiliki 2 bentuk, yaitu stadium cincin (24 jam pertama) dan stadium matur (24 jam berikutnya). EP stadium matur akan membentuk knob (tonjolan) yang memiliki molekul adhesif di permukaannya yang disebut *P. falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1* (PfEMP-1). Perlekatan antara molekul adhesif PE dengan molekul adhesif permukaan endotel pembuluh darah kapiler (Trombospondin, *Intercellular-adhesion Molecule-1/ICAM-1*, *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), dll) menyebabkan obstruksi pembuluh darah sehingga dapat terjadi hipoksia.

b. Sekuesterasi

Sekuesterasi merupakan EP matur yang tidak kembali beredar sehingga menyebabkan obstruksi aliran darah. EP tingkat kapiler yang seharusnya menuju vena dan tetap beredar, akibat adanya sitoaderensi, menyebabkan perlekatan sehingga tertinggal di pembuluh kapiler.

c. Roseting

Roseting merupakan proses EP yang berlekatan dengan eritrosit – eritrosit yang tidak terinfeksi Plasmodium sehingga berbentuk seperti bunga. Hal ini menyebabkan obstruksi lokal dan mempermudah proses sitoaderensi.

2.1.4 Terapi

2.1.4.1 Terapi Farmakologi

1. Malaria tanpa Komplikasi

Rekomendasi pengobatan malaria adalah dengan kombinasi obat Dihidroartemisinin-Piperakuin (DHP) dan Primakuin. DHP diberikan secara oral dan ditambahkan Primakuin untuk membunuh parasit fase gametosid (gametosidal) dan fase hipnozoid (hipnozoidal). Pemberian obat antimalarial tidak boleh saat perut kosong.

Pada malaria falsiparum (tropikal), malaria ovale, malaria vivax (tertian), malaria malariae (kuartana) dan malaria knowlesi dosis DHP diberikan sama (*fix dose*) ditambah dengan Primakuin dengan dosis 0,25 mg/kgBB. Pada malaria falsiparum/vivax/knowlesi DHP diberikan sama (1-3 hari), sedangkan Primakuin pada malaria falsiparum/knowlesi hanya hari pertama dan malaria vivax selama 14 hari, Pengobatan malaria ovale atau malaria infeksi campur menggunakan DHP selama 3 hari dan Primakuin selama 14 hari. Pada malaria malariae menggunakan DHP saja selama 3 hari. Pada malaria vivax yang relaps, DHP diberikan sama namun penambahan dosis Primakuin 0,5 mg/kgBB/hari dengan pemeriksaan Glukosa-6-Fosfat Dehidrogenase (G6PD) sebelumnya. Dosis pada pasien dengan defisiensi G6PD yaitu 0,75 mg/kgBB/minggu selama 8 minggu dengan pemantauan kadar haemoglobin serta warna urin. Primakuin tidak dapat diberikan pada pasien dengan kekurangan enzim G6PD, ibu hamil, ibu menyusui bayi <6 bulan, dan bayi usia <6 bulan.

Pemberian dosis berdasarkan BB (prioritas), atau usia jika pengukuran BB tidak dapat dilakukan. Anak dengan obesitas menyesuaikan dengan BB ideal usianya. Edukasi pemantauan warna urin diberikan bersamaan dengan pemberian obat Primakuin, yaitu segera hentikan

pengobatan dan rujuk ke rumah sakit jika terdapat perubahan warna menjadi coklat tua hingga hitam (Kemenkes RI, 2020).

Hari	Jenis obat	Jumlah tablet per hari menurut berat badan								
		≤5 kg	>5-6 kg	>6-10 kg	>10-17 kg	>17-30 kg	>30-40 kg	>40-60 kg	>60-80 kg	>80 kg
		0-1 bulan	2-<6 bulan	6-12 bulan	<5 tahun	5-9 tahun	10-14 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun
1-3	DHP	½	½	½	1	1½	2	3	4	5
1	Primakuin	-	-	¼	¼	½	¾	1	1	1

Gambar 2.2 Pengobatan dengan DHP dan primakuin menurut Berat Badan pada malaria falsiparum dan vivax
Sumber : Buku Saku Tatalaksana Malaria Kemenkes RI (2020)

Hari	Jenis obat	Jumlah tablet per hari menurut berat badan								
		≤5 kg	>5-6 kg	>6-10 kg	>10-17 kg	>17-30 kg	>30-40 kg	>40-60 kg	>60-80 kg	>80 kg
		0-1 bulan	2-<6 bulan	6-12 bulan	<5 tahun	5-9 tahun	10-14 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun
1-3	DHP	½	½	½	1	1½	2	3	4	5
1-14	Primakuin	-	-	¼	¼	½	¾	1	1	1

Gambar 2.3 Pengobatan dengan DHP dan primakuin menurut Berat Badan pada malaria vivax dan malaria ovale
Sumber : Buku Saku Tatalaksana Malaria Kemenkes RI (2020)

Hari	Jenis obat	Jumlah tablet per hari menurut berat badan								
		≤5 kg	>5-6 kg	>6-10 kg	>10-17 kg	>17-30 kg	>30-40 kg	>40-60 kg	>60-80 kg	>80 kg
		0-1 bulan	2-<6 bulan	6-12 bulan	<5 tahun	5-9 tahun	10-14 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun
1-3	DHP	½	½	½	1	1½	2	3	4	5
1-14	Primakuin	-	-	¼	¼	½	¾	1	1	1

Gambar 2.4 Pengobatan dengan DHP dan primakuin menurut Berat Badan pada malaria malaria infeksi campur (*P. falciparum* + *P. vivax/P. ovale*)
Sumber : Buku Saku Tatalaksana Malaria Kemenkes RI (2020)

2. Malaria Berat

Tatalaksana malaria berat harus dilakukan di Rumah Sakit atau puskesmas yang memiliki fasilitas yang memadai. Pemberian rekomendasi utama menggunakan Artesunat secara IV kemudian dilanjutkan dengan DHP secara oral. Puskesmas/klinik yang tidak memiliki ruang rawat inap

dapat merujuk ke RS atau puskesmas/klinik yang memiliki fasilitas memadai, dengan sebelumnya melakukan pengobatan pra rujukan, yaitu Artesunate IV/IM dosis awal 2,4 mg/kgBB atau bila tidak ada berikan DHP peroral sesuai BB. Pemberian cairan perlu diperhatikan dengan saksama karena berpotensi mengalami edema paru (Kemenkes, 2020).

2.1.4.2 Terapi Herbal

Pengobatan herbal berbahan tumbuh - tumbuhan sudah menjadi bagian penting dalam upaya mengobati penyakit. Diperkirakan lebih dari 40.000 spesies tanaman telah digunakan sebagai obat di berbagai belahan dunia terutama di Negara Berkembang. Di Indonesia sendiri obat tradisional seperti jamu sudah menjadi konsumsi sehari – hari (Taek MM, 2019).

Sumber obat - obatan antimalarial seperti artemisin dan kinin berasal dari tumbuhan. Berbagai kandungan dari tumbuh – tumbuhan telah diteliti berpotensi sebagai antimalarial penyebab malaria yaitu flavonoid, alkaloid, terpenoid, xanton, sesquiterpen, dan quassinoid (Taek MM, 2019).

Terdapat sekitar 32 spesies tanaman di Indonesia digunakan sebagai upaya mengobati penyakit malaria. Bagian dari tanaman tersebut (akar, batang, daun, buah, bunga) direbus kemudian diminum, dimakan mentah, diperas airnya, seperti pada buah pare (*Momordica charantia*), atau ditelan seperti pil, seperti pada buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). Melalui penelitian Resi EM & Ekawati, CJK (2014) menyebutkan bahwa tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki efek antiplasmodium dengan menghambat pembentukan skizon baru. Tanaman lain seperti kluwih (*Artocarpus camansi*), johar (*Cassia siamea*), dan lainnya juga memiliki aktivitas antiplasmodium karena memiliki kandungan senyawa kimia

antimalarial (Resi EM, 2014; Taek MM, 2019; Wijayanti, S. E., & Chaerunisaa, A. Y. 2019).

Pemberian terapi herbal buah pare aman baik secara oral, sedangkan injeksi intravena lebih toksik dan tidak direkomendasikan. Kadar buah pare yang aman diberikan mencit pada penelitian bervariasi. Penelitian (Evacuasiy E dkk, 2005) dan Astuti Y dkk, 2009) memberikan dosis berkisar antara 0,5 hingga 1 mg/gBB per hari, sedangkan penelitian oleh (Parawansah dkk, 2016) memberikan dosis buah pare berkisar antara 0,05 hingga 0,25 mg/gBB. Buah pare tidak direkomendasikan untuk ibu hamil atau yang merencanakan kehamilan karena mengandung antifertilitas yaitu momorcharin yang dibuktikan dengan penelitian terhadap mencit yang hamil (Ahmad N dkk, 2016; Astuti Y dkk, 2019; Evacuasiy E dkk, 2005; Parawansah dkk, 2016).

2.1.5 Resistensi Obat Antimalaria

Resistensi obat berperan penting dalam kasus mortalitas dan morbiditas penyakit malaria. Resistensi obat antimalaria adalah kemampuan parasit penyebab malaria untuk bertahan hidup di dalam host (manusia) meskipun telah diberikan obat dengan dosis standar hingga tinggi secara teratur. Mekanisme utama yang mendasari pembentukan resistensi obat antimalarial yaitu mutasi genetik parasit *Plasmodium* yang terjadi secara alami yang menyebabkan parasit dapat bertahan dan berefek menurunkan sensitivitas obat antimalaria. Parasit yang telah bermutasi kemudian menyebar melalui nyamuk *Anopheles* menuju host manusia lainnya. Mekanisme resistensi obat, contohnya pada klorokuinolon, yaitu akibat efek obat yang diberikan terus menerus sehingga *Plasmodium* akan memasuki jalur metabolisme lain dan memunculkan terjadinya mutasi. Jalur metabolisme yang

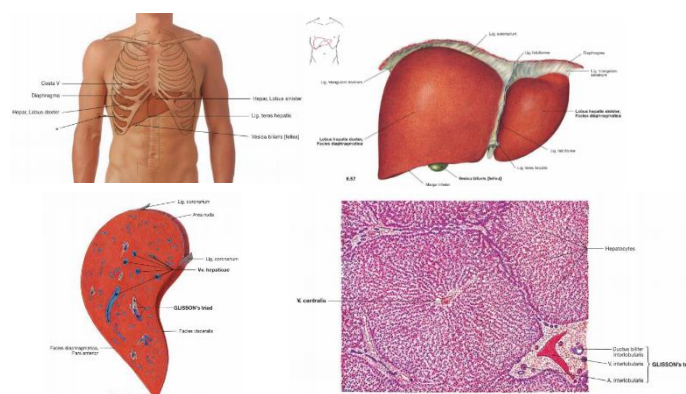
baru akan menyebabkan parasit bertahan hidup dan terjadi resistensi (Olliaro PL & Taylor WR, 2004; Simamora D & Fitri LE, 2013).

2.2 Hepar

2.2.1 Anatomi Hepar

Hepar merupakan organ terbesar intestinal berwarna merah yang memiliki berat 1,2 – 1,8 kg yaitu 25% berat badan orang dewasa. Hepar terletak pada kuadran kanan atas abdomen. Hepar terbagi atas lobus dekstra/kanan dan sinistra/kiri oleh adanya perlekatan ligamentum falsiparum. Lobus dekstra lebih besar sekitar 2 kali dari lobus sinistra. Bagian inferior hepar terdapat vesika biliaris/kandung empedu. Daerah sekitar ligamentum falsiparum dan vesika biliaris kadang terdapat lobus kuadratus dan kaudatus yang bagian inferiornya tertutupi vena kava inferior dan ligamentum venosum.

Struktur vaskular dan duktus biliaris memasuki hati melalui hilum yang terdiri atas v. porta hepatis, A. hepatica propria, dan duktus hepaticus komunis. Tiga struktur ini membentuk Trias Glisson di kanalis portalis (Harijanto, 2014; Paulsen F & Waschke J, 2011)



Gambar 2.5 Gambar 2.5 Anatomi Hepar
Sumber : *Atlas Human Anatomy Sobotta* (2011)

2.2.2 Fisiologi Hepar

Hepar merupakan organ dengan fungsi yang beragam dan kompleks. Metabolisme tubuh termasuk karbohidrat, protein, dan lemak berpusat pada hepar, dimana hal ini berhubungan erat dengan banyaknya aliran darah yang melewati hepar yaitu 100 mL/menit yang mempresentasikan 25-30% *cardiac output*. Vena porta berperan sebanyak 2/3 aliran darah, dan 1/3 melalui arteri hepatic. Fungsi utama hepar yaitu sintesis dan ekskresi getah empedu. Getah empedu terdiri atas air (97%), elektrolit, dan garam empedu. Hepar juga berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh. Sel Kupffer mencakup 80% dari total fagosit di dalam tubuh. Beberapa fungsi lainnya dari hepar antara lain :

1. Metabolisme

- a. Karbohidrat : Glikogenesis yaitu mengubah monosakarida usus halus menjadi glikogen untuk disimpan.
- b. Protein : Sintesis asam amino (transaminasi dan deaminasi), menghasilkan protein plasma albumin, fibrinogen, protrombin, dan faktor pembekuan lainnya.
- c. Lemak : Asam lemak, apolipoprotein dalam sintesis lipoprotein, menghasilkan; fosfolipid, kolesterol, dan asam asetoasetat.
- d. Simpanan vitamin larut lemak
- e. Obat – obatan dan konjugasi

2. Sintesis : Urea, albumin, factor pembekuan, komplemen C3 dan C4, ferritin dan transferrin, protein C reaktif, haptoglobin, α 1-antitripsin, α -fetoprotein, α 2-makroglobulin, seruloplasmin.

3. Ekskresi getah empedu dan obat (metabolit)

4. Imunologi : Perkembangan limfosit B fetus, penghancuran kompleks imun dan limfosit CD8 teraktivasi, fagositosis dan presentasi antigen, produksi lipopolysaccharide-binding protein (LBP), pelepasan sitokin proinflamasi (TNF- α , interferon, dll) oleh sel hepatosit yang rusak dan sel Kupffer (Harijanto, 2014).

2.2.3 Histologi Hepar

Secara mikroskopis, hepar manusia memiliki lobulus – lobulus heksagonal yang terdiri dari beragam sel hepar yang mengelilingi vena sentralis. Sekitar 60% sel hati merupakan sel hepatosit. Antara sel hepatosit terdapat sinusoid yaitu cabang kapiler dari vena porta dan arteri hepatis. Sel fagositik pada hepar disebut dengan sel Kupffer yang merupakan bagian dari sistem retikuloendotelial yang mengisi 15% dari total massa hepar. Sel Kupffer berfungsi menfagosit antigen di dalam tubuh dan mempresentasikannya kepada sel Limfosit. Sel Stellata/sel Ito memiliki aktivitas miofibroblastik yang berfungsi dalam memperbaiki kerusakan hati dan membantu pengaturan aliran darah sinusoidal. Fibrosis hati berhubungan dengan peningkatan aktifitas sel Stellata (Harijanto, 2014).

2.2.4 Patologi Hepatik pada Malaria

Pada fase akut *P. falciparum*, terjadi perbesaran pada ukuran hepar (hepatomegali), kongesti dan perubahan pigmen warna menjadi coklat tua. Pada mikroskopis elektron, sel Kupffer hipertrofi dengan pigmen hemozoin yang berwarna kecoklatan. Pigmen hemozoin berasal dari parasit sebagai respon detoksifikasi dalam menghambat monosit dan upaya menghambat eritropoiesis dengan menginduksi makrofag mengeluarkan sitokin proinflamasi dan mediator penghambat. Dilatasi sinusoid, pembengkakan hingga nekrosis sel Hepatosit.

Disfungsi hepatic diklasifikasikan dalam dua kelompok besar, tipe A meliputi gangguan hepatic fulminant dengan koma, jaundis, purpura, dan sindrom disfungsi multi-organ (MODS), sedangkan tipe B memiliki klinis lebih ringan yaitu demam, sakit kepala, dan muntah yang membaik dalam 10 – 15 hari. Jaundis merupakan gejala yang paling umum terjadi dengan disfungsi hepatic (Intan PR, 2017; Renom M & Alonso PL, 2007).

2.3 CD4 dan CD8

Sel limfosit memiliki peran utama pada sistem imun spesifik. Imunitas spesifik memiliki sifat spesifitas tinggi terhadap antigen, namun harus diaktifkan oleh paparan antigen sehingga respon cenderung lambat. Setiap sel limfosit hanya dapat mengekspresikan reseptor pada satu jenis antigen saja. Sirkulasi sel limfosit terjadi terus menerus melewati darah dan limfe, dan bermigrasi ke organ limfoid dan rongga jaringan. Sistem imunitas humoral berpusat pada sel B, dan sistem imunitas seluler berpusat pada sel T. Sel B dan sel T berasal dari sel multipoten di sumsum tulang, kemudian sel T berproliferasi dan berdiferensiasi di kelenjar timus. Hanya 5-10% sel T yang matang dari keseluruhan dan dapat keluar dari timus dan menuju sirkulasi darah dan menetap pada organ limfoid perifer. Bila APC perifer mempresentasikan antigen spesifik pada sel T naïve di dalam organ limfoid sekunder (kelenjar limfoid, MALT, dan limpa), akan terjadi diferensiasi sel T. Diferensiasi sel T menghasilkan subsel yaitu sel CD4+ helper (Th1 dan Th2), CD8+ sitotoksik (CTL/Tc/Ts/Tr/Th3), dan sel T memori (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.1 CD4

2.3.1.1 Definisi dan Klasifikasi

Sel T CD4 merupakan salah satu bentuk diferensiasi dari sel T setelah terpajan antigen. Sel T CD4 akan berdiferensiasi menjadi 2 subsel yaitu Th1 dan Th2. Th1 akan mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba, sedangkan Th2 akan menginduksi aktivasi sel B dan Tc. Selain sel T efektor, CD4 juga akan berdiferensiasi menjadi sel T memori dan menetap di organ limfoid (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.1.2 Asal dan Lokasi CD4

Sel CD4 memori berada di organ limfoid seperti kelenjar getah bening atau kelenjar non limfoid. Timus merupakan asal limfosit naif yang kemudian bermigrasi ke organ limfoid sekunder seperti KGB dan limpa menjadi sel efektor dan memori jika terpajan antigen. Sel T akan bermigrasi menuju sirkulasi pembuluh darah perifer. Sel T CD4 juga terdapat di plat peyer mukosa usus halus, lamina propria. CD4 di plasenta melepas sitokin Th2 yang mencegah respons Th1 agar tidak terjadi penolakan pada sperma. Pada wanita hamil terjadi penurunan Th1 oleh estrogen (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.1.3 Peran CD4

Sel CD4⁺ bekerja secara ekstraseluler dengan mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba yang ditelannya. Sel CD4⁺ berperan dalam imunitas humoral dengan memicu sel B untuk berproliferasi dan diferensiasi. Sel CD4⁺ Th1 berperan dalam memulai proses inflamasi dengan mengeluarkan IL-2, IFN- γ , dan TNF sebagai mediator inflamasi. Sel CD4⁺ Th2 berperan dalam mengaktifkan dan meningkatkan produksi antibodi sel B dan meningkatkan aktifitas sel Tc dengan mengeluarkan sitokin seperti IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13. Sel Th2 diperlukan untuk aktivasi sel B oleh protein larut. Selain Th1 dan

Th2, telah ditemukan sel T helper lain yaitu Th2, Th9, Th17, Th22, dan Th folikuler (Tfh) dengan peran dan fungsi yang beragam. Th9 berperan dalam patofisiologi alergi saluran napas. Th17 mengeluarkan IL-17 yang berperan dalam aktivasi neutrophil. Th22 berperan dalam inflamasi di lapisan sel epidermal. Tfh berhubungan erat dalam pengaturan pertumbuhan sel B (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.1.4 Aktivasi CD4

Aktivasi CD4 berawal dari presentasi antigen oleh *Antigen Presenting Cell* (APC) melalui MHC-II. Diferensiasi sel CD4 menjadi Th1 terjadi akibat respon mikroba, antigen intraseluler, aktivasi sel NK, parasit, virus, dan antigen protein yang dipresentasikan. Diferensiasi Th1 memicu reaksi sitotoksik dan hipersensitivitas lambat. Makrofag atau sel dendritik akan melepas IL-12 yang memicu perkembangan Th1. IFN- γ secara tidak langsung akan meningkatkan respon Th1. IL-4 hasil produksi sel T akan menginduksi Th2. GATA-3 memicu diferensiasi Th2. Diferensiasi sel CD4 menjadi Tdth untuk reaksi hipersensitivitas jalur lambat dan menginduksi makrofag dipicu oleh IL-12 dan IFN- γ hasil produksi APC. Diferensiasi Th2 disebabkan oleh sitokin IL-4, IL-5, IL-10, dan IL-13 yang berasal dari sel mast aktif (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.2 CD8

2.3.2.1 Definisi

Sel T CD8 atau disebut dengan sel T sitotoksik (CTL/Tc) merupakan hasil diferensiasi sel T naif. Sel CD8⁺ bekerja secara intraseluler dengan memicu apoptosis sel terinfeksi, sel ganas, maupun sel histoin kompatibel yaitu sel yang menimbulkan penolakan transplantasi. Sel CD8 juga dapat menghancurkan secara

langsung sel yang terinfeksi pada kondisi tertentu (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.2.2 Asal dan Lokasi CD8

Baik CD8 dan CD4 berasal dari sumsum tulang yang kemudian bermigrasi menuju timus dan bermigrasi kembali dan menetap di KGB dan limfoid atau menyebar di berbagai bagian tubuh melalui sirkulasi darah. Sel T naif cenderung tidak bersirkulasi dan menetap di KGB. Jaringan intraepitel mengandung sel limfosit dengan >90% merupakan sel T CD8. Lamina propria juga mengandung sel T CD4 dan CD8 (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.2.3 Peran CD8

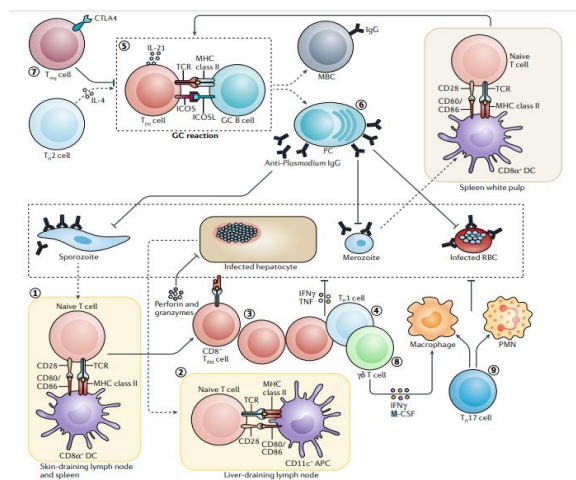
Sel CD8 dapat memicu apoptosis dengan mengeluarkan perforin, granzim, FasL, TNF- α . Sel CD8 juga meningkatkan produksi sitokin Th1 dan Th2. Mekanisme apoptosis sel T dapat melalui ekspresi perforin yang dapat melubangi permukaan sel target, kemudian terjadi pengaktifan kaspase oleh granzim yang masuk ke dalam sel target melalui lubang. Mekanisme lainnya yaitu mengekspresikan molekul FasL yang akan mengaktifkan kaspase (Baratawidjaja KG & Rengganis I, 2014).

2.3.2.4 Aktivasi CD8

Aktivasi CD8 berawal dari *Antigen Presenting Cell* (APC) yang mempresentasikan antigen melalui MHC-I yang ditemukan pada seluruh sel tubuh. Ciri – ciri antigen yang dapat dikenal sel T adalah yang berikatan langsung dengan sel atau bukan antigen terlarut (Baratawidjaja, KG & Rengganis I, 2014).

2.3.3 Respon CD4 dan CD8 pada Malaria

Sel T CD4 dan CD8 naif akan diaktifkan oleh sel APC terutama sel Dendritik dengan mempresentasikan antigen Plasmodium melalui MHC kelas II. Sel T CD8 kemudian bekerja secara spesifik dengan mengeluarkan perforin dan granzim yang akan memicu apoptosis sel hepatosit yang terinfeksi. Sel T CD4 akan berdiferensiasi menjadi CD4 Th1 dan Tfh yang dipicu oleh IL-6 dan IL-12 yang dihasilkan sel dendritik. Th1 akan memproduksi sitokin IFN γ yang akan mengaktifkan makrofag untuk fagositosis dan memproduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat toksik bagi parasit. Sel Tfh akan mengaktifkan sel B spesifik-parasit dan sel B di pusat germinal dan memicu peningkatan diferensiasi sel B memori (MBC) dan sel plasma dalam menghasilkan antibodi yang dapat melumpuhkan atau melekat pada sporozoit agar menjadi target sel B-tergantungan sel T (Kurup SP dkk, 2019).

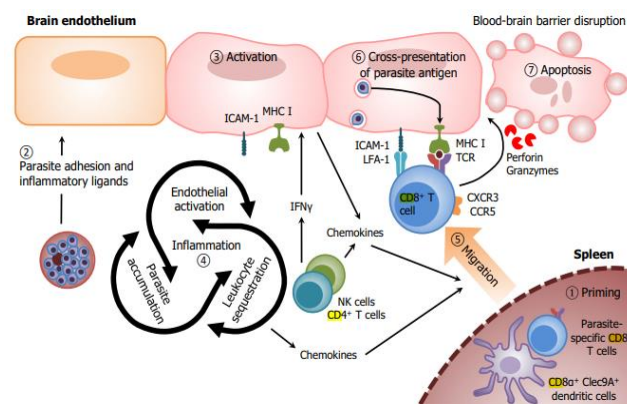


Gambar 2.6 Respon CD4 dan CD8 pada Plasmodium penyebab Malaria
Sumber : Kurup SP, dkk (2019)

Sel limfosit yang semula aktif akibat respon pertahanan diri dari Plasmodium, selanjutnya juga berkontribusi pada terjadinya malaria itu sendiri. Pada pasien malaria ditemukan kadar limfosit yang meningkat di dalam darah akibat aktivitas yang berlebihan. Sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan sel Th1 CD4

seperti TNF, IFN γ dapat mengarahkan kepada malaria berat. Sel CD4 merupakan sumber sekresi utama IFN γ yang berperan pada terjadinya malaria serebral. IFN γ meningkatkan sekresi Nitrit Oksida (NO) yang kemudian melintasi BBB dan merusak jaringan otak. NO tersebut juga dapat merusak neurotransmitter. Peningkatan sel Th1, IFN γ , dan respon sel B yang dipicu IFN γ dapat merusak imunitas humoral atau meningkatkan ekspresi pemicu apoptosis phosphatidylserine yang dapat memperparah anemia. Tingginya produksi sitokin pro-inflamasi IFN γ dan rendahnya sitokin anti-inflamasi IL-10 merupakan penyebab terjadinya proses patologi hepar dan otak (Gunawan CA & Marsetyawan, 2014; Kurup SP, 2019; Langhorne J dkk, 2008; Mawuntu AH, 2018; Niikura M dkk, 2011; Suriani E, 2018).

Respon inflamasi yang intens menyebabkan *Multiple Organ Dysfunction*. Sel limfosit T terutama sel CD8 merupakan mediator primer terjadinya malaria serebral eksperimental. Sel T primer CD8 mensekresi IFN γ , perforin, dan granzim yang menginduksi apoptosis sel dan merusak *Brain Blood Barrier* (BBB) pada malaria serebral. IFN γ secara tidak langsung berperan dalam akumulasi eritrosit yang terinfeksi pada malaria serebral (de Souza dkk, 2016; Howland SW dkk, 2015; Kurup SP, 2019).



Gambar 2.7 Respon CD4 dan CD8 Menyebabkan Malaria Berat
Sumber : Howland SW, dkk (2015)

2.4 Pare (*Momordica charantia*)

Buah pare (*Momordica charantia*) merupakan tanaman merambat yang banyak ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Buah pare diduga berasal dari India dan Myanmar dan tumbuh tersebar di Negara tropis lainnya. Karakteristik utama buah pare adalah rasanya yang pahit dan bentuknya yang bergerigi disekitarnya sehingga memiliki nama Latin “*Momordica*” yang mengacu pada bentuknya yang seperti tergigit. Buah pare juga dikenal dengan sebutan *Bitter Melon*. Buah pare banyak dimanfaatkan sebagai sayuran dan obat – obatan berbagai penyakit (Anilakumar KR, 2015; Subahar TSS dkk, 2004)

2.4.1 Taksonomi

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Cucurbitales</i>
Famili	: <i>Cucurbitaceae</i>
Genus	: <i>Momordica</i>
Spesies	: <i>Momordica charantia</i>
Sebutan umum	: <i>Bittergourd, Karle</i>

(Dwijayanti DR dkk, 2019; Kumar KPS dkk, 2010)



Gambar 2.8 Tanaman Pare di Indonesia
Sumber : Anto A (2014)

2.4.2 Morfologi

Tanaman Pare merupakan tanaman yang tumbuh menjalar dan tergolong tanaman semak semusim. Sulurnya panjang, berbentuk spiral, dan tumbuh di samping daun. Tanaman pare mengeluarkan bau langu (tidak sedap) yang khas. Tanaman pare berakar tunggang berwarna putih. Tanaman pare memiliki batang tegak dan muda. Batang tegak tanaman ini berusuk lima, tidak berkayu, dan berwarna hijau, sedangkan batang mudanya berambut dan hilang saat tua. Daun tanaman pare bulat seperti telur, berlekuk, berbulu, dan berwarna hijau tua di bagian permukaan atas, dan hijau muda kekuningan di bagian bawah. Susunan tulang daun tanaman pare berjari. Tanaman pare memiliki bunga berwarna kuning menyala dan tumbuh dari ketiak daun. Kelopaknya berusuk banyak dan berbentuk lonceng (Andani NMS, 2016; Subahar TSS dkk, 2014).

Bunga pare betina yang telah mengalami penyerbukan akan menghasilkan buah pare. Buah pare memiliki bentuk bulat memanjang. Permukaannya berbintil - bintil. Buah pare muda berwarna hijau dan jika matang akan berubah jingga dan pecah (Andani NMS, 2016; Subahar TSS dkk, 2014).



Gambar 2.9 Buah Pare Matang yang Pecah
Sumber : Andani NMS (2016)

2.4.3 Manfaat

Pare sering kali dimanfaatkan sebagai obat – obatan tradisional dalam mengobati bermacam penyakit. Hampir seluruh bagian tanaman pare dapat dimanfaatkan sebagai obat. Buahnya digunakan untuk mengobati asma, konstipasi, helmintiasis, sensasi terbakar, luka, penyakit kulit seperti bisul, kerusakan hati, ulser, kanker, dan diabetes. Kandungan pahit buahnya berperan dalam membersihkan darah dan mengatasi masalah kulit. Daun tanaman pare digunakan untuk mengobati masalah menstruasi, sensasi panas, konstipasi, infeksi bakteri dan virus, helmintiasis, penyakit akibat parasit, hepatitis, diabetes, measles dan demam akibat malaria. Daunnya dapat digunakan baik topikal maupun oral. Masyarakat Guyana memanfaatkan daunnya sebagai minuman teh daun. Biji pare digunakan untuk mengobati ulser, kolesterol tinggi, diabetes, kanker, parasite intestinal, dll. Akar tanaman pare digunakan di Amerika Serikat dalam bentuk kapsul dan tingtur untuk mengobati diabetes, influenza, kanker, tumor, kolesterol tinggi, dll (Susilawati S & Hermansyah H, 2014).

Beberapa penelitian in vitro dan in vivo membuktikan beberapa khasiat yang ada pada tanaman pare. Menurut Ahmad N dkk (2016), membuktikan bahwa

pare memiliki aktivitas anti-malaria. Selain itu, ekstrak daun dan biji pare dibuktikan dapat menghambat multiplikasi sel kanker. Penelitian yang dilakukan pada hewan coba tikus dengan diabetes menunjukkan penurunan kadar glukosa yang tinggi dan juga efek hipokolesterolemik (Ahmad N dkk, 2016; Susilawati S & Hermansyah H, 2014).

2.4.4 Kandungan

Pare mengandung banyak senyawa kimia dengan aktifitas biologi yang diteliti dapat berpotensi sebagai obat – obatan. Kandungan senyawa kimia pare yang sering menjadi sorotan para peneliti antara lain adalah cucurbitacins, momordicin, triterpenoid, sterols, vicine, alkaloid, flavonoid, phenolic, inorganic, dan komponen lipid. Tannin, quinone, dan coumarine juga terdapat pada pare. Aktivitas antimalarial pada pare diduga berhubungan dengan efek sinergis dan antagonis aktivitas metabolit kimia aktif (de Oliveira MS dkk, 2018).

2.4.4.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid memiliki khasiat dalam menghambat pertumbuhan parasit Plasmodium. Flavonoid bekerja dengan menghambat transport nutrisi Plasmodium sehingga pada Jalur Permeasi Baru (New Permeation Pathway/NPP) pada stadium intraeritrositik tidak terbentuk membran parasit. Flavonoid juga menghambat proses detoksifikasi heme dan degradasi hemoglobin (Widyawaruyanti A & Zaini NCS, 2011).

Flavonoid memiliki aktivitas anti inflamasi dengan menghambat sitokin inflamasi Th1 seperti TNF, IL-2, dll (Martinez G dkk, 2019; Peluso I dkk, 2015).

Penelitian Prakoso YA & Kurniasih (2018) menunjukkan bahwa terjadi penurunan CD8 pada pemberian ekstrak tanaman yang memiliki kandungan flavonoid dan terpenoid (Prakoso YA & Kurniasih, 2018).

Flavonoid juga memiliki aktifitas dalam menghambat polimerisasi hem dengan membentuk sekuesterasi hemin bebas sehingga membentuk quercetin-hemin (Septiana dkk, 2017).

2.4.4.2 Terpenoid

Terpenoid memiliki aktivitas anti-inflamasi yang bekerja dalam menghambat produksi IFN Th1 dan meningkatkan produksi IL-4 Th2. IL-4 dapat menurunkan parasitemia, patologi malaria berat, dan mortalitas. Walaupun mekanisme belum jelas, namun IL-4 diduga menurunkan infiltrasi CD8 sehingga menurunkan mortalitas malaria (Prakash V, 2017; Wu X dkk, 2021).

Penelitian Rachma R (2017) menunjukkan yaitu terjadi peningkatan IL-4 pada pemberian ekstrak tanaman yang memiliki kandungan terpenoid dan flavonoid (Rachma R, 2017).

Penelitian Septiana dkk (2017) menjelaskan bahwa senyawa golongan terpenoid dapat bekerja sebagai antimalarial dengan menghambat polimerasi hem. Hem merupakan hasil penguraian haemoglobin yang dilakukan oleh parasit untuk mengambil zat globin yang dimanfaatkan sebagai nutrisi. Hem bersifat toksik, sehingga Plasmodium akan melakukan polimerisasi yaitu mengubah Hem menjadi hemozoin yang tidak bersifat toksik (Septiana, 2017).

2.4.4.3 Alkaloid

Senyawa alkaloid memiliki aktifitas sitotoksik yaitu sebagai immunosupresif dengan menghambat proliferasi CD4 dan menurunkan produksi INF γ dan TNF α .

Berdasarkan penelitian Febrianty H dkk (2015), menyebutkan bahwa terjadi penurunan sel CD4 dengan pemberian senyawa alkaloid. Menurut Hartono (1996) alkaloid memiliki efek immunosupresif sehingga dapat menghambat produksi sel limfosit T, menghambat proliferasi sistem imun, dan bekerja sebagai sitotoksitas (Febrianty H dkk, 2015; Zhao XX dkk, 2012).

Golongan alkaloid dilaporkan juga dapat bekerja sebagai antiplasmodium dengan menghambat pertumbuhan parasit *P. falciparum* yang diduga berhubungan erat dengan sifat antioksidan. Efek antioksidannya diduga berperan penting dalam menghambat aktifitas parasit. Studi lain menjelaskan alkaloid juga berperan dalam menghambat polimerasi hem (Nasrullah AA, 2013; Septiana, 2017).

2.5 Hewan Coba

Hewan coba (percobaan) atau hewan laboratorium merupakan hewan yang dengan sengaja ditenakkan dan dipelihara agar dapat dipakai sebagai hewan model penelitian atau pengamatan laboratorium dalam mengamati fenomena biologis dan patobiologis untuk mempelajari dan mengembangkan berbagai bidang ilmu. Hewan model dipakai sebagai imitasi atau peniruan manusia (atau spesies lain). Hewan model yang sering dipakai dalam penelitian adalah *rodent* atau binatang pengerat (tikus biobreeding, tikus putih, marmot, mencit), kelinci, kera, anjing, babi, dll (Stevani 2017; Novita 2015).

Model hewan coba secara umum diklasifikasikan sebagai model hewan genetik atau yang diinduksi spontan dan model hewan non genetik atau yang diinduksi secara eksperimental. Model hewan genetik tidak mengalami rekayasa apapun pada status fisiologisnya yaitu hewan normal dan hewan abnormal yang mengalami mutasi spontan, sedangkan hewan non genetik diberikan perubahan status fisiologis

melalui modifikasi genetik, pembedahan, atau pemberian zat kimia. Hewan genetik cenderung lebih mudah dipelihara, murah, dan ketersediannya lebih banyak, namun dapat terjadi hal – hal di luar prediksi selama pertumbuhannya. (Husna F dkk, 2019).

Menurut (Agustina KK 2017, Yurista SV dkk, 2016), penggunaan hewan coba perlu memperhatikan kesejahteraan hewan model. Hewan coba harus baik secara fisiologis maupun psikologis dalam menunjang kualitas hidupnya. Dalam buku *The Principles of Humane Experimental Technique* oleh Russel & Burch (1959) merekomendasikan prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) dalam mengambil keputusan penggunaan hewan coba :

1. *Replacement* (Penggantian)

Prinsip ini berpegang pada mengganti yang hidup dengan yang mati, dan mengganti model berdasarkan kesejahteraan hewan. Contohnya dengan menggunakan kultur organ, jaringan, atau sel sebagai pengganti hewan hidup, menggunakan model komputer, menggunakan model yang tidak merasakan atau tidak memiliki kesadaran, atau penggunaan hewan yang memiliki ordo lebih rendah, seperti penggunaan *rodent* dibandingkan monyet, unggas dibandingkan *rodent*, dan ikan dibandingkan unggas, dan seterusnya.

2. *Reduction* (Pengurangan)

Penggunaan hewan didasarkan pada jumlah yang paling sedikit namun tetap menghasilkan data sesuai yang diharapkan. Satu hewan coba dapat dipakai untuk beberapa penelitian sekaligus demi mengurangi jumlah penggunaan hewan coba. Prinsip ini juga mencakup jumlah perlakuan yang diberikan yang berhubungan dengan rasa kesakitan hewan coba.

3. *Refinement* (Memperhalus)

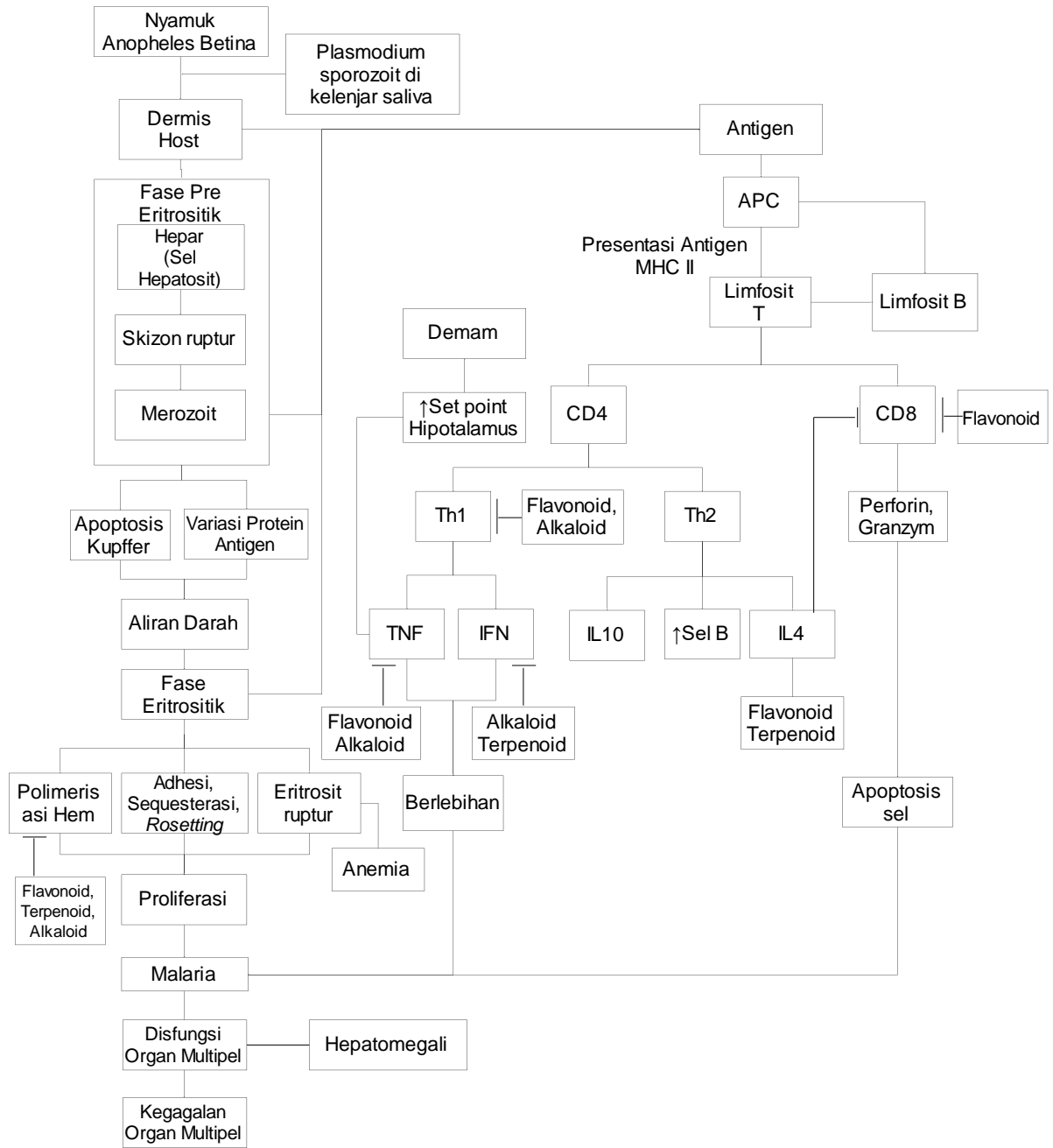
Prosedur pemeliharaan dan tindakan penelitian harus seminimal mungkin menghasilkan rasa sakit dan stress hewan coba. Hewan coba diperlakukan secara manusiawi (*inhumane*) sehingga kesejahteraan hewan dapat terjamin.

2.5.1 Hewan Coba Mencit

Menurut (Listyorini PI 2012; Rejeki dkk, 2019; Novita, 2015; Stevani, 2017) mencit merupakan hewan pengerat (*rodent*) yang paling banyak dipakai sebagai hewan model penelitian. Kisaran penggunaan mencit yaitu 40-80% dan sering digunakan khususnya dalam penelitian biologi. Mencit seringkali disebut tikus mini karena menyerupai tikus dengan ukuran yang lebih kecil. Mencit berkembang biak dengan sangat cepat dan banyak sehingga banyak digunakan pada penelitian terutama yang membutuhkan hewan coba dalam jumlah yang banyak. Mencit memiliki keunggulan yaitu 99% gennya menyerupai gen manusia dan memiliki variasi sifat yang tinggi sehingga menghasilkan model yang sesuai untuk penelitian berbagai macam penyakit manusia. Siklus hidup mencit relatif singkat sehingga pemilihan mencit harus didasarkan pada estimasi waktu penelitian. Beberapa karakteristik mencit lainnya sehingga banyak digunakan sebagai hewan coba antara lain,

1. Mudah dalam penanganan dan tempat penyimpanan
2. Harganya relatif murah
3. Jinak
4. Ketersediaan data dari penelitian sebelumnya

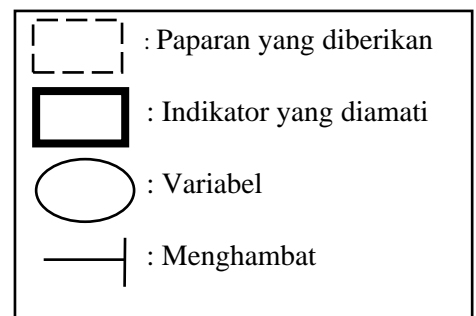
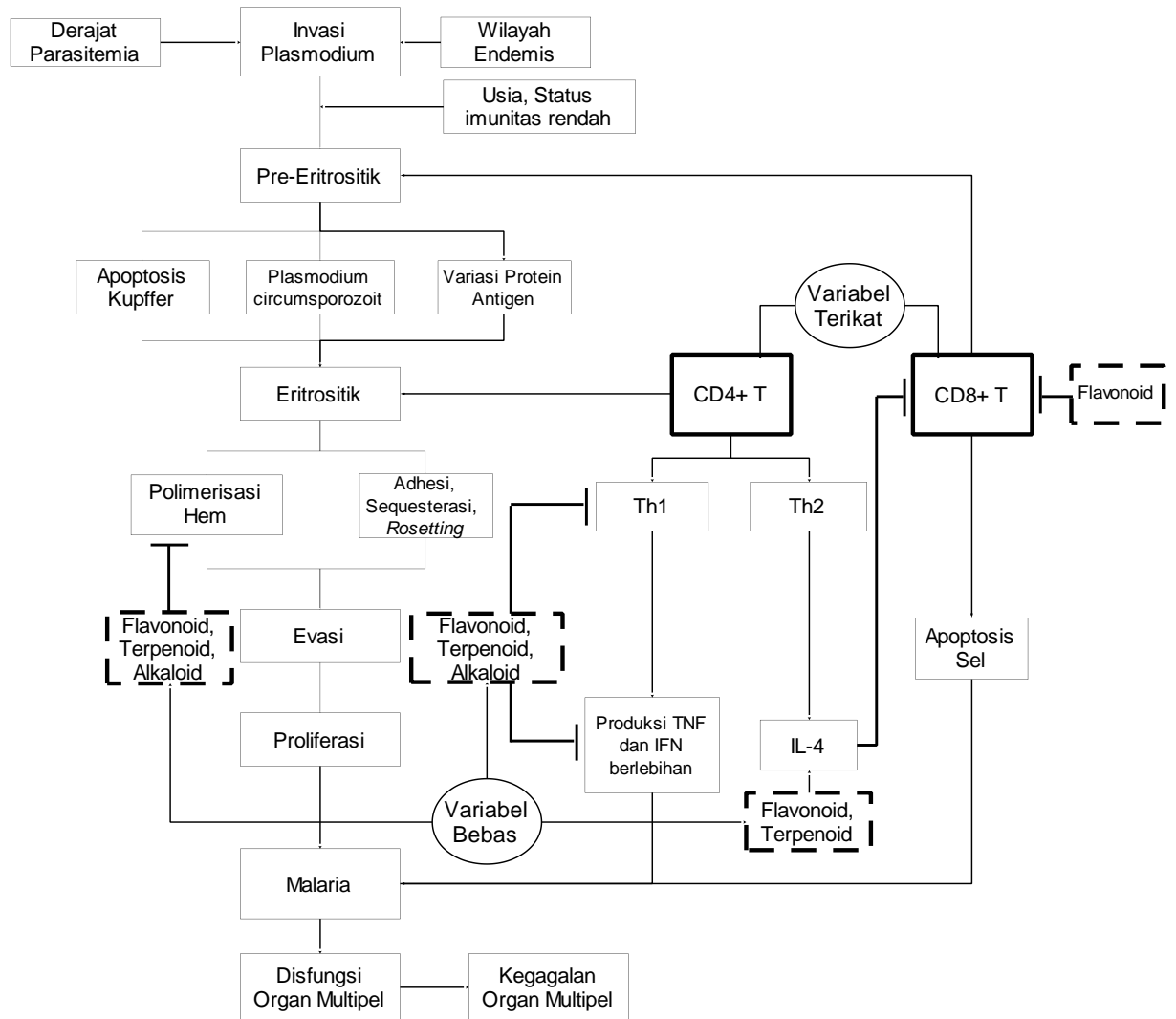
2.6 Kerangka Teori Penelitian



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Manusia merupakan host intermediate dari parasit *Plasmodium*. Parasit *Plasmodium* yang masuk dan menginvasi sel host akan mengaktifkan berbagai respon imun yang kompleks baik itu sistem imun bawaan (*innate*) maupun adaptif.

Plasmodium yang berhasil masuk ke hepar akan menginvasi hepatosit melalui *Plasmodium Circumsporozoite* (CSP). Sel kupffer akan berusaha memfagosit parasit, sedangkan sel T CD8+ akan memicu apoptosis sel yang terinfeksi. Sel T CD4+ juga bekerja dengan meningkatkan aktivitas sel plasma dengan menghasilkan antibodi untuk mencegah masuknya *Plasmodium*. Mekanisme pertahanan *Plasmodium* berupa apoptosis sel Kupffer.

Parasit *Plasmodium* yang telah melalui fase pre-eritrositik di hepar akan melanjutkan siklusnya menuju sirkulasi darah (fase eritrositik). Pada fase eritrositik, *Plasmodium* yang masuk ke dalam sel eritrosit akan memakan hemoglobin dan membentuk hemozoin sebagai respon perlindungan dari toksisitas. *Plasmodium* juga akan melakukan adhesi, sekuesterasi, dan *rosetting*. Pada fase ini sistem imun melakukan beberapa respon; antibodi akan melakukan opsonisasi pada eritrosit yang terinfeksi, sel CD4+ akan mengeluarkan sitokin proinflamasi dan merangsang makrofag.

Parasit *Plasmodium* memiliki berbagai mekanisme evasi terhadap respon imun untuk mempertahankan hidupnya sehingga sulit bagi sistem imun untuk berespon terhadap antigen parasit *Plasmodium*. Sifat khas *Plasmodium* yaitu protein antigennya yang sangat bervariasi akan menyulitkan sel adaptif mengenali antigen penyebab malaria ini.

Respon tubuh *host* terhadap invasi *Plasmodium* tidak selamanya menguntungkan. Sistem imun pada malaria yang diaktifkan sebagai bentuk

perlindungan cenderung menyebabkan penyakit malaria itu sendiri. Sel CD4 memproduksi TNF dan IFN yang dapat merusak jaringan otak dan memperparah anemia. Sel CD8 merupakan penyebab utama terjadinya malaria serebral melalui mekanisme apoptosis sel.

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa pare (*Momordica charantia*) dapat bekerja sebagai antimalaria karena memiliki berbagai kandungan diantaranya flavonoid, terpenoid, dan alkaloid. Flavonoid bekerja sebagai antiinflamasi dengan menghambat Th1 dan CD8. Sifat antiplasmodiumnya dapat menghambat transportasi nutrisi parasit dan polimerisasi hem pada fase eritrositik. Terpenoid juga bekerja sebagai antiinflamasi dengan menghambat Th1 dan menstimulasi Th2 sehingga menurunkan CD8, dan sebagai antiplasmodium dengan menghambat polimerisasi hem. Alkaloid bekerja sebagai antiinflamasi dengan menghambat proliferasi CD4 dan menurunkan produksi INF γ dan TNF α sekaligus bekerja sebagai antiplasmodium dengan menghambat polimerisasi hem.

Pemberian buah pare diharapkan dapat menurunkan aktifitas sel T CD4 dan CD8 yang berlebihan, sehingga dapat mengobati malaria dan dapat menurunkan kadar Plasmodium di dalam tubuh.

3.2 Hipotesis Penelitian

Terapi buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat menurunkan CD4 dan CD8 pada mencit balb/c yang diinfeksi *plasmodium berghei*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian untuk mengetahui uji pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) terhadap penurunan CD4 dan CD8 pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei* menggunakan jenis penelitian eksperimental murni secara *in vivo*. Penelitian dilakukan dengan membandingkan mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* kemudian diberikan terapi ekstrak buah pare dengan kelompok kontrol yaitu mencit di infeksi *Plasmodium berghei* tetapi tidak diterapi ekstrak buah pare.

Variabel penelitian yang akan diamati meliputi :

- a. Variabel bebas (*Independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak buah pare.

- b. Variabel terikat (*Dependent*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah CD4, CD8.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Prosedur penginfeksian mencit dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Ekstrak pare (*Momordica charantia*) didapatkan dari UPT Materia Medica Batu. Perawatan, pemberian ekstrak, dan pembedahan mencit dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Universitas Islam Negeri Mualana Malik Ibrahim Malang. Pengamatan derajat parasitemia dan slide histologi dilakukan di Laboratorium Parasitologi Universitas Islam Negeri Mualana Malik Ibrahim Malang. Uji imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Patologi

Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Waktu penelitian dilaksanakan mulai Bulan Januari 2020 hingga Mei 2021.

4.3 Populasi Penelitian

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang diteliti (Notoatmodjo, 2010). Populasi target pada penelitian ini adalah mencit galur Balb/c. Populasi terjangkau adalah mencit galur Balb/c yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada. Galur Balb/c dipilih karena merupakan model yang baik dalam memperagakan status terhadap malaria.

4.4 Sampel Penelitian

Sampel adalah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Notoatmodjo, 2010). Sampel yang digunakan adalah mencit galur Balb/c yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada yang memenuhi kriteria inklusi, serta tidak memiliki kriteria eksklusi.

Pembagian sampel dibagi dalam 4 kelompok yaitu :

- A. Kelompok perlakuan 1 diinfeksi *Plasmodium berghei* (n=6), diterapi ekstrak buah pare dengan dosis 0,25 mg/grBB.
- B. Kelompok perlakuan 2 diinfeksi *Plasmodium berghei* (n=6), diterapi ekstrak buah pare dengan dosis 0,5 mg/grBB.
- C. Kelompok perlakuan 3 diinfeksi *Plasmodium berghei* (n=6), diterapi ekstrak buah pare dengan dosis 1 mg/grBB.
- D. Kelompok kontrol negatif (n=6) yaitu mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* yang hanya diberikan pakan mencit sederhana.

4.4.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi merupakan kriteria dimana subjek penelitian mewakili sampel penelitian yang memenuhi syarat sebagai sampel (Nursalam, 2011). Kriteria inklusi didapatkan selama jangka waktu penelitian. Pada penelitian ini, kriteria inklusi meliputi :

- a. Mencit jantan dewasa umur 13-16 minggu
- a. Berat badan mencit antara 20-30 gram
- b. Tidak cacat fisik
- c. Tidak pernah kawin

4.4.2 Kriteria Eksklusi

kriteria eksklusi merupakan kriteria dimana subjek penelitian tidak dapat mewakili sampel karena tidak memenuhi syarat sebagai sampel penelitian (Nursalam, 2011). Pada penelitian ini, kriteria eksklusi meliputi :

- a. Mencit yang mati saat perlakuan

4.4.3 Besar Sampel

Besaran sampel untuk penelitian eksperimental murni (*true experimental*) di laboratorium menggunakan rumus federer yaitu :

$$\{(t-1)(n-1)\} \geq 15$$

$$\{(4-1)(n-1)\} \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok

n : jumlah sampel

Dari rumus tersebut diperoleh ukuran sampel yang digunakan untuk masing-masing kelompok adalah 6, sehingga mencit yang diperlukan untuk penelitian ini berjumlah 24 ekor.

4.4.4 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik sampling yang digunakan adalah *non probability sampling* yaitu *purposive sampling*.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk penelitian adalah sebagai berikut :

4.5.1 Perawatan Mencit

Alat dan bahan untuk perawatan mencit yaitu kandang mencit masing-masing untuk 6 ekor mencit, botol minum mencit, makanan mencit (BR1 pakan olahan ternak untuk memenuhi kecukupan nutrisi mencit dan kecambah kacang hijau), dan sekam.

4.5.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*)

Menggunakan alat gelas beaker, batang pengaduk, labu erlenmeyer, mikropipet. Bahan yang digunakan buah pare, aquades.

4.5.3 Inokulasi *Plasmodium berghei*

Alat untuk inokulasi *Plasmodium berghei* yaitu tabung *ependorf*, mikropipet, hemositometer, gelas obyek, tip kuning, tabung *falcon* 15 ml, gunting steril, dan spuit insulin 1 ml, mikroskop. Bahan inokulasi *Plasmodium berghei* yaitu *Plasmodium berghei* dari darah mencit terinfeksi, larutan Phosphate Buffer Saline (PBS), larutan M^{+} , *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) , larutan Giemsa, methanol p.a, kapas alkohol, buffer giemsa.

4.5.4 Pengukuran Derajat Parasitemia

Alat pengukuran derajat parasitemia antara lain tabung *eppendorf*, mikropipet, hemositometer, *object glass*, tip kuning, gelas obyek, gunting steril, pipet, mikroskop. Bahan pengukuran derajat parasitemia meliputi kapas alkohol, buffer giemsa & larutan giemsa, methanol p.a, minyak emersi.

4.5.5 Pemberian Ekstrak Buah Pare

Alat yaitu sonde lambung, spuit 1 ml Terumo, sendok makan, mikropipet. Bahan yaitu aquades, larutan ekstrak buah pare.

4.5.6 Pengambilan Sampel Hepar (Pembedahan Mencit)

Alat yang dibutuhkan antara lain alas bedah, jarum, spuit, gunting bedah, pinset, sprayer, botol plastik tempat jaringan, dan timbangan digital. Bahan terdiri dari alkohol dan formalin cair 10 %.

4.5.7 Metode Imunohistokimia

Alat yang digunakan untuk memeriksa CD4 dan CD8 dengan metode imunohistokimia ialah labu erlenmeyer, pipet tetes, mikropipet, yellow tip, kaca preparat, kaca penutup, tabung *eppendorf*, gelas ukur, tisu. Bahan yang digunakan antara lain aquades, air kran, larutan PBS. Bahan antara lain antibodi anti CD4 dan CD8; santacruz, entelan.

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Indikator & Satuan
Ekstrak Pare	Ekstrak pare yang digunakan untuk terapi didapatkan dari UPT Materia Medica Batu kemudian dilakukan pelarutan di Laboratorium Parasitologi UIN Malang	Gelas beaker	Kategorik	K(-) = tidak diberi terapi ekstrak pare (0 mg/gBB) P1 = 0,25 mg/gBB P2 = 0,5 mg/gBB P3 = 1 mg/gBB
CD4	CD4 merupakan sistem imun limfosit yang berperan penting dalam melawan parasit penyebab malaria pada fase eritrositik.	Metode imunohistokimia	Numerik	Persen (%)
CD8	CD8 merupakan sistem imun limfosit yang berperan penting dalam melawan parasit penyebab malaria pada fase pre eritrositik.	Metode imunohistokimia	Numerik	Persen (%)
Derajat Parasitemia	Persentase jumlah eritrosit yang mengandung parasit dihitung di antara 1000 eritrosit pada sediaan apusan tipis dengan pengecatan Giemsa menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000 kali. Derajat parasitemia merupakan variabel antara yang diamati untuk melihat peningkatan derajat parasitemia sebagai syarat dilakukan terapi.	Apusan darah tipis menggunakan mikroskop cahaya	Numerik	Persen (%)

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Sampel Mencit

Mencit Balb/c didapatkan dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan

Universitas Gadjah Mada. 24 mencit dibagi dalam 4 kelompok. Setiap hari diberi

pakan dan minum. 2 hari sekali dilakukan penggantian sekam. Berat badan ditimbang setiap hari.

4.7.2 Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*)

Ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) didapatkan dari UPT Materia Medica Batu kemudian dilakukan pelarutan dengan aquades di Laboratorium Parasitologi UIN Malang.

4.7.3 Infeksi *Plasmodium berghei* galur ANKA

Dilakukan inokulasi *P. berghei* galur ANKA (hasil thawing dari liquid nitrogen) kepada mencit donor secara intraperitoneal sebesar 1×10^6 /ml. Kemudian dilakukan penghitungan parasitemia setiap hari dengan mengambil darah dari ujung ekor mencit lalu dibuat apusan darah tipis yang dipulas dengan pewarnaan Giemsa. Jumlah parasit dihitung per 1000 eritrosit. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x Untuk menghitung jumlah eritrosit, dari ujung ekor mencit donor diambil darah sebanyak 10 μ L dan dilakukan pengenceran 10^3 dengan larutan PBS lalu jumlah eritrosit dihitung menggunakan kamar hitung Naubauer. Jumlah eritrosit/ml darah diketahui dengan rumus $(N \times 5 \times 10^4 \times \text{pengenceran})$, dengan N adalah jumlah eritrosit. Selanjutnya, jumlah parasit mencit donor dihitung dengan mengalikan jumlah eritrosit/ml darah dengan prosentase parasitemia. Jumlah parasit yang hendak diberikan sebesar 1×10^6 /ml darah, sehingga pengenceran yang dilakukan untuk mendapatkan jumlah parasit tersebut adalah jumlah parasit/ 1×10^6 . Mencit dinyatakan dapat diterapi jika derajat parasitemia mencit donor mencapai lebih dari 15%.

Inokulasi hewan coba dilakukan dengan cara parasitemia mencit donor yang telah diencerkan diinjeksikan ke dalam peritoneal hewan coba. Prosedur inokulasi

ialah tengkuk mencit dipegang untuk membalikkan tubuh mencit sehingga tampak bagian perut dari mencit dengan bagian kepala lebih rendah daripada badan. Daerah penyuntikan dibersihkan terlebih dahulu dengan etanol 70%. Selanjutnya jarum steril ditusukkan dengan kemiringan sebesar 30 derajat ke bagian kuadran kanan atau kiri bawah dari perut mencit. Lakukan aspirasi terlebih dahulu guna memastikan penusukan telah tepat kemudian material diinjeksikan.

4.7.4 Pembuatan Apusan Darah Tipis dan Pengecatan Giemsa

Darah diambil dengan menggunting ujung ekor mencit dengan gunting steril dan menaruhnya di kaca preparat kemudian dibuat sediaan apusan darah tipis. Setelah kering, teteskan methanol dan diamkan selama 1 menit agar darah terfiksasi. Kemudian buat campuran Giemsa:buffer untuk pewarnaan dengan rasio 1:9. Selama 30 menit. Kemudian bilas dengan air dan keringkan. Derajat parasitemia diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x. Perhitungan persentase dihitung dengan mengamati jumlah eritrosit yang terinfeksi dalam 1000 eritrosit. Pembuatan preparat dilakukan untuk melihat peningkatan derajat parasitemia sebagai syarat dilakukan terapi.

4.7.5 Pemberian Ekstrak Buah Pare

Pada hari ke-3 setelah diinfeksi dilakukan pemberian ekstrak pare pada kelompok 1, 2, dan 3 masing masing dosis 0,25 mg/gBB, 0,5 mg/gBB, dan 1 mg/gBB. Ekstrak dilarutkan dengan aquades kemudian diberikan menggunakan sonde.

4.7.6 Pengambilan Sampel Hepar (Pembedahan mencit)

Setelah pengamatan yang dilakukan selama 8 hari sejak diinfeksi dan 6 hari sejak diterapi, pada mencit dilakukan euthanasia dengan teknik dislokasi leher.

Mencit dibedah untuk pengambilan organ hepar untuk pengecekan variabel. Mencit diletak di atas papan untuk dibedah. Pembedahan dilakukan dengan membuka kulit abdomen lalu rongga thoraks. Hati di simpan di botol organ dengan formalin 10%. Mencit yang sudah dibedah selanjutnya dikuburkan di dalam tanah.

4.7.7 Pembuatan Slide Histologi

Prosedur pembuatan slide histologi adalah sebagai berikut :

4.7.7.1 Proses Pematangan Jaringan berupa Makros

Gross hasil bedah dimasukan ke dalam larutan formalin 10% (fiksasi) dan dibiarkan selama semalam. Kemudian dilakukan pemilihan jaringan terbaik sesuai yang akan diteliti. Selanjutnya jaringan dipotong dengan ketebalan kurang lebih 2-3 mm dan dimasukkan ke kaset jaringan serta diberikan kode sesuai kode gross peneliti. Sebelum diproses menggunakan alat *Tissue Tex Processor*, dimasukan terlebih dahulu ke larutan formalin 10 %. Proses memakan waktu sekitar 90 menit. Bunyi alarm menandakan proses telah selesai.

4.7.7.2 Proses Pengeblokan dan Pematangan Jaringan

Jaringan yang telah diproses di mesin *Tissue Tex Processor* di angkat dan selanjutnya di blok dengan paraffin sesuai dengan kode jaringan. Kemudian jaringan di potong dengan alat *microtome* ketebalan 3-5 mikron.

4.7.7.3 Proses Deparafinisasi

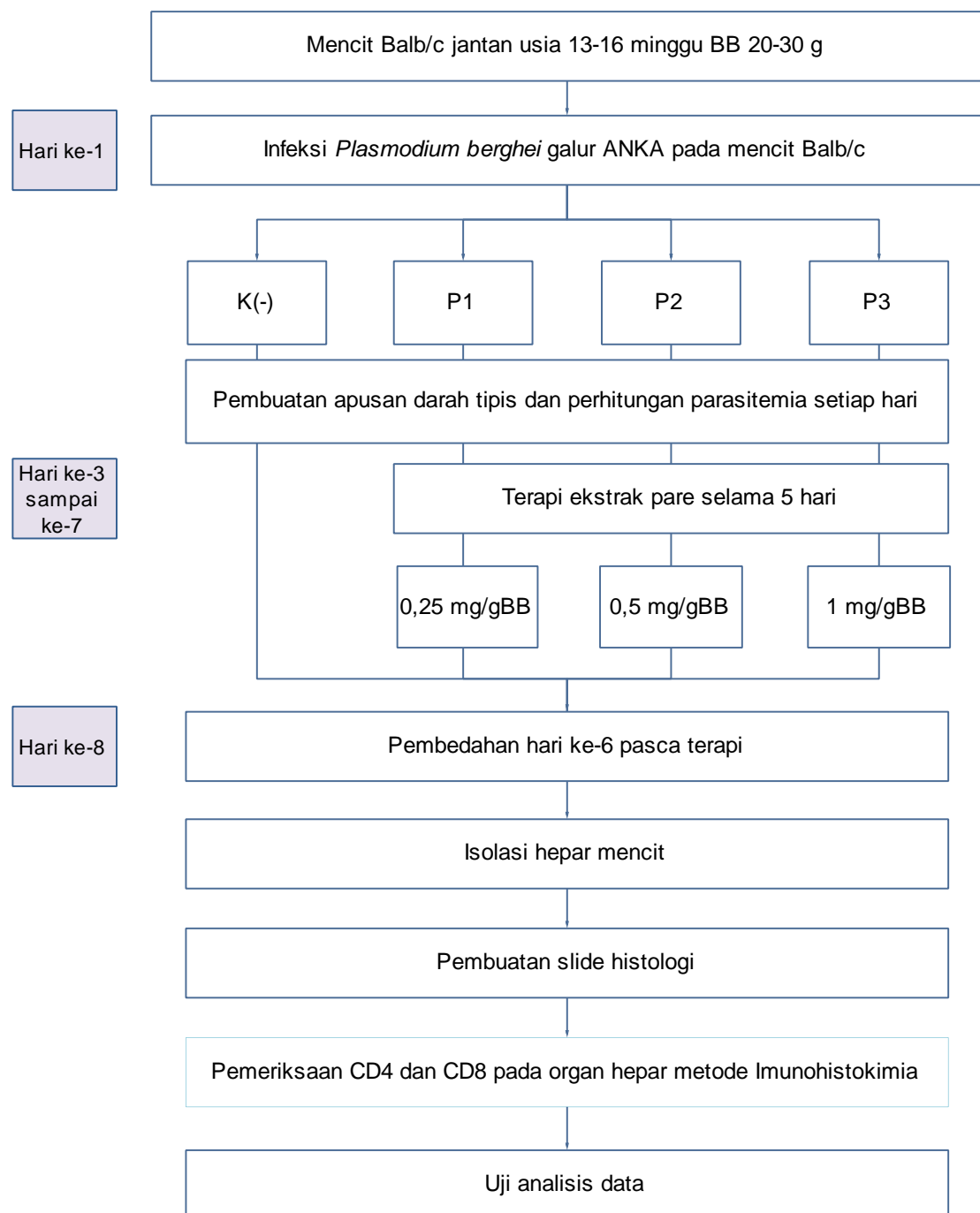
Potongan jaringan dioven dengan suhu 70-80 derajat selama 30 menit. Rendam slide di dalam tabung larutan xylol I dan II masing – masing selama 20 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam tabung alkohol I, II, III, dan IV untuk hidrasi masing – masing selama 3 menit. Langkah selanjutnya yaitu masukkan ke dalam tabung dengan air mengalir selama 15 menit.

4.7.8 Pemeriksaan CD4 dan CD8 pada Organ Hepar

Pemeriksaan CD4 dan CD8 dilakukan dengan metode imunohistokimia di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB. Pengecatan imunohistokimia pada slide dilakukan deparafinisasi dengan xylol 2x10 menit, ethanol absolute 1x5 menit, ethanol 90% 1x5 menit, ethanol 80% 1x5 menit, ethanol 70% 1x5 menit, aquades steril 3x5 menit. Slide selanjutnya dicuci dengan PBS steril 3x5 menit, dikeringkan dan ditetesi dengan H₂O₂ 3% dalam methanol dan diinkubasi selama 15–20 menit. Selanjutnya, dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Kemudian, dilakukan *antigen retrieval* (AR) menggunakan *Heat induced epitope retrieval* (HIER) dengan pemanasan 95°C dalam *water bath* selama 20 menit dalam buffer citrate pH 0,6. Slide didinginkan secara perlahan. *Blocking* protein yang tidak spesifik dilakukan dengan meneteskan triton-x100 0.25% dalam *blocking buffer* BSA selama 1 jam suhu ruang dan dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Selanjutnya, slide ditetesi dengan antibodi primer (antibodi primer: FBS 5% = 1:100) dalam blocking buffer BSA, diinkubasi satu malam dalam suhu 4°C. Keesokan harinya slide dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Diinkubasi dengan antibodi sekunder anti-IgG rabbit anti-mouse selama 60 menit suhu ruang, dan dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Setelah itu slide ditetesi dengan SAHRP (SAHRP dalam PBS steril 1:500), diinkubasi 40 menit suhu ruang, dicuci dengan PBS steril 3x5 menit, dan dicuci dengan aquades steril 3x5 menit kemudian ditambahkan kromogen DAB (1:50), diinkubasi 30 menit suhu ruang, dan dicuci PBS steril 3x5 menit. Terakhir slide di-*counterstain* dengan hematoksin mayer, diinkubasi 5 -10 menit suhu ruang, dan dicuci dengan *tap water* steril 3x5 menit.

Slide diamati dengan mikroskop perbesaran 1000x dan ekspresi CD4 dan CD8 dideteksi dari warna coklat di inti dan ekstraseluler pada jaringan hati. Untuk perhitungan persentase dihitung berdasarkan jumlah ekspresi CD4 dan CD8 dalam inti sel di hepar.

4.7 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

Analisis data menggunakan program komputer *Statistical Product for Service Solution* (SPSS) versi 25. Data yang didapatkan dilakukan uji normalitas menggunakan Saphiro Wilk lalu dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan Levene. Data terdistribusi normal dan homogen jika $p > 0,05$.

Jika data normal maka dilanjutkan dengan uji One-Way ANOVA (*Analysis of Variance*) dan uji lanjutan *Post-hoc LSD* (*Least Significance Different*) jika data homogen, atau uji *Post-hoc Tamhane* jika data tidak homogen. Jika data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post-hoc Mann-Whitney*. Hasil dinyatakan signifikan bermakna jika $p < 0,05$.

BAB V

HASIL PENELITIAN

BAB VI

PEMBAHASAN

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat berpengaruh dalam menurunkan CD4 pada mencit Balb/c yang Diinfeksi Plasmodium berghei.
2. Pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat berpengaruh dalam menurunkan CD8 pada mencit Balb/c yang Diinfeksi Plasmodium berghei.
3. Dosis tertinggi pada penelitian yaitu 1 mg/gBB paling efektif dalam menurunkan CD4 dan CD8 pada mencit Balb/c yang diinfeksi Plasmodium berghei

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian menggunakan dosis yang lebih luas untuk mengetahui dosis maksimal penggunaan ekstrak buah pare yang dapat bekerja secara efektif dan tidak menyebabkan toksisitas dalam menurunkan CD4 dan CD8 pada mencit Balb/c yang diinfeksi *P. berghei*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian terapi berbahan dasar ekstrak buah pare secara klinis pada dosis yang efektif dan tidak menyebabkan toksisitas untuk pengobatan malaria.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, K., K. 2017. Kesejahteraan Hewan Laboratorium. Universitas Udayana.
- Ahamad, J., Amin, S., & Mir, S. R. 2017. *Momordica charantia* Linn.(Cucurbitaceae): Review on phytochemistry and pharmacology. *Phytochemistry*, 11(2), 53-65.
- Ahmad, N., Hasan, N., Ahmad, Z., Zishan, M., & Zohrameena, S. 2016. *Momordica charantia*: for traditional uses and pharmacological actions. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 6(2), 40-44.
- Andani, N. M. S. 2016. Buah pare yang terlambat dipanen. Diakses melalui : <https://nimadesriandani.wordpress.com/2016/01/21/buah-pare-yang-terlambat-dipanen/>
- Anonymous. 2017. Kemenkes Catat 23 Kasus MERS dan Malaria Terjadi di Arab Saudi. <https://www.republika.co.id/berita/internasional/global/17/08/22/ov2jo3359-kemenkes-catat-23-kasus-mers-dan-malaria-terjadi-di-saudi>
- Anonymous. 2020. Kasus Malaria Melonjak Ditengah Pandemi Covid-19 di Anambas. <https://batampos.co.id/2020/07/15/kasus-malaria-melonjak-ditengah-pandemi-covid-19-di-anambas/>
- Amelya PS, Merry. 2006. *Pengaruh pemberian minyak Pandanus conoideus terhadap derajat parasitemia mencit Swiss yang diinfeksi Plasmodium berghei* ANKA. PhD Thesis. Faculty of Medicine.
- Anilakumar, K. R., Kumar, G. P., & Ilaiyaraja, N. 2015. Nutritional, pharmacological and medicinal properties of *Momordica charantia*. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(1), 75-83.
- Anto, A. 2014. Kiat Budi Daya Tanaman Pare. BPTP Kalimantan Tengah. Senin. <http://kalteng.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php/publikasi-mainmenu-47-47/teknologi/398-kiat-budi-daya-tanaman-pare>
- Astuti, E. P., dkk. 2019. Upaya pengendalian malaria dalam rangka pre-eliminasi di Kabupaten Garut: Sebuah Studi Kualitatif. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 22(4), 255-264.
- Astuti, Y., Fitriana, S., & Rahayu, N. S. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak pare (*Momordica charantia* L) terhadap motilitas dan morfologi sperma mencit. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 9(1), 26-32.
- Avrina, R., Risniati, Y., Siswanto, H., Hasugian, A. R., Tjitra, E., & Delima, D. 2011. Hubungan Kepadatan Parasit dengan Manifestasi Klinis pada Malaria *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 21(3), 150282.
- Bagot, S., et al. 2002. Susceptibility to experimental cerebral malaria induced by *Plasmodium berghei* ANKA in inbred mouse strains recently derived from wild stock. *Infection and immunity*. 70.4 : 2049-2056.
- Baratawidjaja, K. G., & Rengganis, I. 2014. *Imunologi Dasar* edisi ke-11. Jakarta: *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*.
- Bintari, I. G. (2016). *Deteksi Aeromonas hydrophila pada Ginjal Mencit (Mus musculus) dengan Teknik Imunohistokimia* (Doctoral dissertation, Universitas Airlangga).

- Belachew, E. B. 2018. Immune response and evasion mechanisms of Plasmodium falciparum parasites. *Journal of immunology research*, 2018.
- Chekka, Satya Vani, and Naresh Kumar Mantipelly. 2020. Momordica charantia: A natural medicinal plant. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences* 12.2 (2020): 129-135.
- Danuw, D. W. 2017. *Perumpamaan Nyamuk dalam Al Quran*. (<https://alimancenter.com/perumpamaan-nyamuk-dalam-al-quran/>) Diakses pada tanggal 18 September 2020.
- Departemen kesehatan Republik Indonesia. 2018. *Buku saku tatalaksana kasus malaria*. Subdit Malaria Direktorat P2PTVZ Kemenkes RI. Jakarta.
- de Oliveira, M. S., da Costa, W. A., Bezerra, F. W. F., Ara&ujo, M. E., Ferreira, G. C., & de Carvalho Junior, R. N. 2018. Phytochemical profile and biological activities of Momordica charantia L.(Cucurbitaceae): A review. *African Journal of Biotechnology*, 17(27), 829-846.
- de Souza, M. C., Pádua, T. A., & das Graças Henriques, M. 2016. Multiple Organ Dysfunction During Severe Malaria: The Role of the Inflammatory Response. *Current Topics in Malaria*, 85.
- Dwijayanti, D. R., Okuyama, T., Okumura, T., Ikeya, Y., & Nishizawa, M. 2019. The anti-inflammatory effects of Indonesian and Japanese bitter melon (Momordica charantia L.) fruit extracts on interleukin-1 β -treated hepatocytes. *Functional Foods in Health and Disease*, 9(1), 16-33.
- Evacuasiyany, E., Darsono, L., & Rosnaeni, R. 2005. Studi Efektivitas Antidiabetik Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica Charantia Linn) pada Mencit Diabet Aloksan. *Maranatha Journal of Medicine and Health*, 4(2), 148393.
- Febrianty, H., & Djati, M. S. 2015. Modulasi Sel T CD4+ dan CD8+ pada Spleen Ayam Arab Putih (Gallus turcicus) dengan Ransum yang Mengandung Daun Pepaya (Carica papaya L.). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 3(3), 107-111.
- Fu, Y., Ding, Y., Wang, Q., Zhu, F., Tan, Y., Lu, X., ... & Cui, L. 2020. Blood-stage malaria parasites manipulate host innate immune responses through the induction of sFGL2. *Science advances*, 6(9), 9269.
- Gunawan, C. A., & Marsetyawan, H. N. E. S. 2014. *Dinamika Respon Sitokin Pro-Inflamasi Dan Sitokin Anti-Inflamasi Pada Malaria Berat: Hubungannya Dengan Manifestasi Klinis* (Doctoral Dissertation, [Yogyakarta]: Universitas Gadjah Mada).
- Gupta, M., Sharma, S., Gautam, A. K., & Bhadauria, R. (2011). Momordica charantia Linn.(Karela): Nature's silent healer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 11(1), 32-37.
- Harijanto, P. N. 2014. *Malaria dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, jilid III, edisi IV. Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta.
- Harsa, I. M. S. 2019. Pemberian Ekstrak Buah Pare dan Diet Tinggi Lemak pada Penurunan Berat Badan Tikus Putih Jantan. *Hang Tuah Medical Journal*, 17(1), 60-65.
- Hisaeda, H., Yasutomo, K., & Himeno, K. 2005. Malaria: immune evasion by parasites. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(4), 700-706.

- Husna, F., Suyatna, F. D., Arozal, W., & Purwaningsih, E. H. 2019. Model hewan coba pada penelitian diabetes. *Pharmaceutical Sciences & Research*, 6(3), 1.
- Howland, S. W., Claser, C., Poh, C. M., Gun, S. Y., & Rénia, L. 2015. Pathogenic CD8⁺ T cells in experimental cerebral malaria. In *Seminars in immunopathology* (Vol. 37, No. 3, pp. 221-231). Springer Berlin Heidelberg.
- Intan, P. R. 2017. Studi Histopatologi Pasca Pemberian Ekstrak Campuran Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* LR Br.) dan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*. *YARSI medical Journal*, 25(1), 10-22.
- Indrayanti. 2017. Pengaruh Paparan Cypermethrin Per Oral Terhadap Ekspresi Bcl-2 Pada Sel Granulosa Dan Jumlah Folikel Antral Pada Ovarium Rattus Norvegicus (Magister Thesis). Universitas Brawijaya.
- Kemenkes, RI. 2020. Buku Saku Tatalaksana Kasus Malaria. Kementerian Kesehatan RI : Jakarta.
- Kemenkes, RI. 2020. Protokol Layanan Malaria Dalam Masa Pandemi Covid-19. Kementerian Kesehatan RI : Jakarta.
- Kemenkes, RI. 2021. Data Terkini Kasus Malaria di Indonesia. Kementerian Kesehatan RI : Jakarta. Dapat diakses melalui <https://www.malaria.id/>
- Kumar, K. P. S., & Bhowmik, D. 2010. Traditional medicinal uses and therapeutic benefits of *Momordica charantia* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4(3), 23-28.
- Kurup, S. P., Butler, N. S., & Harty, J. T. 2019. T cell-mediated immunity to malaria. *Nature Reviews Immunology*, 19(7), 457-471.
- Langhorne, J., Ndungu, F. M., Sponaas, A. M., & Marsh, K. 2008. Immunity to malaria: more questions than answers. *Nature immunology*, 9(7), 725-732.
- Listyorini, P. I. 2012. Uji keamanan ekstrak kayu jati (*Tectona grandis* LF) sebagai bio-larvasida *Aedes aegypti* terhadap mencit. *Unnes Journal of Public Health*, 1(2).
- Marewa, L. W. 2015. *Kencing Manis (Diabetes Mellitus) di Sulawesi Selatan*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Martínez, G., Mijares, M. R., & De Sanctis, J. B. 2019. Effects of Flavonoids and Its Derivatives on Immune Cell Responses. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 13(2), 84-104.
- Mawuntu, A. H. 2018. Malaria serebral: cerebral malaria. *Jurnal Sinaps*, 1(3), 1-21.
- McIntyre, N. 2008. *Textbook of hepatology: from basic science to clinical practice*. Third edition. John Wiley & Sons.
- Muftikah, DM. 2019. Tumbuhan Obat Perspektif Al-Quran. *Skripsi*. IAIN Salatiga.
- Mustofa, D., Kahtan, M. I., Natalia, D., Zakiah, M., & Widiyantoro, A. 2019. Efektivitas ekstrak metanol akar pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Sebagai antimalaria terhadap jumlah limfosit dalam darah mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Intisari Sains Medis*, 10(2), 489-496.
- Nasrullah, A. A., Zahari, A., Mohamad, J., & Awang, K. 2013. Antiplasmodial alkaloids from the bark of *Cryptocarya nigra* (Lauraceae). *Molecules*, 18(7), 8009-8017.

- Nasution, S. S., Setiyono, A., & Handharyani, E. (2015). Deteksi imunohistokimia antigen coxiella burnetii sebagai penyebab Q fever pada sapi. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 9(2).
- Niikura, M., Inoue, S. I., & Kobayashi, F. 2011. Role of interleukin-10 in malaria: focusing on coinfection with lethal and nonlethal murine malaria parasites. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011.
- Novita, R. 2015. Pemilihan Hewan Coba pada Penelitian Pengembangan Vaksin Tuberculosis. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 4(1), 15-23.
- Olasehinde, G., Ojurogbe, O., Fagade, O., Ruchi, S., & Ajayi, A. 2012. In-vitro studies on the sensitivity pattern of Plasmodium falciparum to antimalarial drugs and local herbal extracts. *Malaria Journal*, 11(1), 1-1.
- Olliaro, P. L., & Taylor, W. R. 2004. Developing artemisinin based drug combinations for the treatment of drug resistant falciparum malaria: A review. *Journal of postgraduate medicine*, 50(1), 40.
- Parawansah, P., Wahyuni, W., & Mahmudah, Z. 2016. Uji efek antipiretik dan antiinflamasi ekstrak etanol buah pare (Momordica charantia L.) terhadap Mencit Jantan. *Medula*, 4(1).
- Paulsen, F & Waschke, J. 2011. Sobotta Atlas Human Anatomy, vol 2, 23rd edition. Elsevier : Munich.
- Peluso, I., Miglio, C., Morabito, G., Ioannone, F., & Serafini, M. (2015). Flavonoids and immune function in human: a systematic review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(3), 383-395.
- Perez-Mazliah, D., & Langhorne, J. 2015. CD4 T-cell subsets in malaria: TH1/TH2 revisited. *Frontiers in immunology*, 5, 671.
- Prakash, V. 2017. Terpenoids as source of anti-inflammatory compounds. *Asian J Pharm Clin Res*, 10(3), 68-76.
- Prakoso, Y. A., & Kurniasih. 2018. The Effects of Aloe vera Cream on the Expression of CD4+ and CD8+ Lymphocytes in Skin Wound Healing. *Journal of tropical medicine*, 2018.
- Prevention, C. C. 2020. for DC and. CDC-Malaria-About Malaria-Biology. Dapat diakses melalui <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>
- Rachma, R. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Alga Cokelat (Sargassum Sp.) Terhadap Penurunan Skor Ulkus Lambung Yang Diamati Secara Makroskopis Pada Lambung Tikus Rattus Norvegicus Strain Wistar Yang Diinduksi Indometasin (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Rejeki, P. S., Putri, E. A. C., & Prasetya, R. E. 2019. Ovariectomi pada Tikus dan Mencit.
- Renom, M. & Alonso, P. L. 2004. Textbook of hepatology from basic science to clinical practice 3rd ed. *Malaria*. Oxford : Blackwell Publishing.
- Resi, E. M., & Ekawati, C. J. K. 2014. Effect of Antimalaria Herbal Sambiloto (Andrographis Paniculata Nees) on Morphology Changes of Development and Parasite Plasmodium Falciparum. *Jurnal Info Kesehatan*, 12(1), 661-669.
- Sardjono, T. W., & Fitri, L. E. 2011. Malaria, mekanisme terjadinya penyakit dan pedoman penanganannya. Malang: Lab Parasit FKUB.
- Sandy S, Wike I. 2019. Pengaruh iklim terhadap *Annual Parasite Incidence* malaria di Kabupaten Jayapura tahun 2011 – 2018. *J. Health.Epidemiol.Communit.Dis.* 5(1): 9-15.

- Septiana, E., Gianny, D., & Simanjuntak, P. 2017. Toksisitas dan Aktivitas Antimalaria Melalui Penghambatan Polimerisasi Hem Secara In Vitro Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 27(4), 255-262.
- Simamora, D., & Fitri, L. E. 2013. Resistensi obat malaria: mekanisme dan peran obat kombinasi obat antimalaria untuk mencegah. *Jurnal kedokteran brawijaya*, 23(2), 82-91.
- Stevani, H., 2017. Praktikum Farmakologi, Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.
- Subahar, T. S.S., & Lentera, T. 2004. Khasiat & Manfaat Pare. *AgroMedia*.
- Suharjo, S. 2015. Pengetahuan Sikap dan Perilaku Masyarakat Tentang Malaria di Daerah Endemis Kalimantan Selatan. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 25(1), 20719.
- Suriani, E. 2018. Identifikasi Hasil Pemeriksaan Hitung Jumlah Limfosit Pada Pasien Penderita Malaria plasmodium falcifarum Di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Muhammad Zein. In *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis* (Vol. 1, No. 1).
- Susilawati, S., & Hermansyah, H. 2014. *Uji potensi antiplasmodium ekstrak buah pare (momordica charantia l.) Terhadap plasmodium falciparum*. *Molekul*, 9(1), 13-17.
- Swaminathan, V. 2011. Efek ekstrak biji pare (*Momordica charantia* L.) terhadap gambaran hispatologi hepar mencit swiss yang diinfeksi Plasmodium berghei ANKA.
- Syaifudin, M., & Ramadhani, D. 2018. *Optimalisasi Pewarnaan Giemsa Pada Apusan Darah Tipis Terinfeksi Plasmodium berghei Untuk Mendukung Pengembangan Vaksin Malaria Iradiasi*. *Jurnal. Biotek Medisiana Indonesia*, 7(1), 77-84.
- Taek, M., M. 2019. *Obat Tradisional untuk Pengobatan Penyakit Malaria Artikel Review*. *Ethnomedicine and ethnomedicinal plants of various ethnics in Timor island Indonesia*.
- Teja, K., Mukh, S., & Siti, N. (2014). Daya Infektif Campuran Plasmodium Berghei Iradiasi Dan Non-Iradiasi Pada Mencit (*Mus musculus*). *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Fungsional Pengembangan Teknologi Nuklir IX*.
- Veronica, E., Amelia, I., Yunatan, K. A., Chrismayanti, N. K. S. D., & Mahendra, A. N. (2020). Potensi Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oliefera*) dan Artemisia (*Artemisia annua*) Sebagai Antimalaria Plasmodium falciparum. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 831-841.
- Villarino, N., & W Schmidt, N. 2013. CD8+ T cell responses to Plasmodium and intracellular parasites. *Current Immunology Reviews*, 9(3), 169-178.
- Voorberg-van der Wel, A., Kocken, C. H., & Zeeman, A. M. (2021). Modeling Relapsing Malaria: Emerging Technologies to Study Parasite-Host Interactions in the Liver. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 871.
- Wahyuniati, N., & Maulana, R. 2015. Peran Interleukin-10 Pada Infeksi Malaria. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 15(2), 96-103.
- Walters, J. H., & McGregor, I. A. 1960. *The mechanism of malarial hepatomegaly and its relationship to hepatic fibrosis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 54(2), 135–145

- White, N. J. 2004. Antimalarial drug resistance. *The Journal of clinical investigation*, 113(8), 1084-1092.
- Wibisono E, Susilo A, Nainggolan L. 2014. Kapita Selektta Kedokteran. Jilid 1. Edisi 4. Jakarta: Media Aesculapius.
- Widyawaruyanti, A., & Zaini, N. C. Syafruddin. 2011. Mekanisme dan aktivitas antimalaria dari senyawa flavonoid yang diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus Champeden*). *JBP. Unair. ac. id*, 13(2).
- Wijaya, J. K. I. 2019. Potensi Pare (*Momordica Carantia* L) Sebagai Antimalaria. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 2(2), 210-216.
- Wijayanti, S. E., & Chaerunisaa, A. Y. 2019. Tanaman Herbal Berkhasiat Sebagai Obat Antimalaria. *Farmaka*, 17(2), 94-104.
- World Health Organization. 2015. *Guidelines for the treatment of malaria*. World Health Organization.
- World Health Organization. 2019. *World Malaria Report 2019*. Global Malaria Programme.
- World Health Organization. 2020. World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges.
- Wu, X., Thylur, R. P., Dayanand, K. K., Punmath, K., Norbury, C. C., & Gowda, D. C. (2021). IL-4 Treatment Mitigates Experimental Cerebral Malaria by Reducing Parasitemia, Dampening Inflammation, and Lessening the Cytotoxicity of T Cells. *The Journal of Immunology*, 206(1), 118-131.
- Yurista, S. R., Ferdian, R. A., & Sargowo, D. 2016. Principles of the 3Rs and ARRIVE Guidelines in Animal Research. *Jurnal Kardiologi Indonesia*• Vol, 37(3).
- Zhao, X. X., Peng, C., Zhang, H., & Qin, L. P. 2012. *Sinomenium acutum*: a review of chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use. *Pharmaceutical Biology*, 50(8), 1053-1061.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Tabel Berat Badan dan Derajat Parasitemia Mencit

Tabel Berat Badan Mencit

Tanggal	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari ke-7
Kelompok							
Kontrol (-)	25	25	25	26	26	26	24
	26	26	25	26	26	26	27
	31	31	29	31	31	30	29
	22	22	23	23	23	22	20
	27	28	27	28	29	28	28
	22	22	22	22	22	21	21
P1	33	31	31	31	29	27	26
	29	28	27	27	26	25	23
	27	27	27	28	24	23	22
	27	26	25	27	27	27	27
	31	31	31	35	32	30	28
	27	28	28	28	25	23	23
P2	25	24	25	26	24	23	22
	25	26	26	27	25	23	22
	26	27	29	28	27	25	24
	25	22	22	23	21	19	18
	26	24	25	25	23	22	19
	25	26	27	26	25	23	22
P3	22	21	21	22	22	21	19
	25	25	24	24	22	20	19
	24	23	22	23	22	20	20
	21	20	21	22	21	19	18
	21	20	21	22	21	19	18
	25	24	25	26	24	22	21

Tabel Derajat Parasitemia Mencit

Tanggal	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari ke-7
Kelompok							
Kontrol (-)	107	122	124	173	109	124	106
	40	47	155	69	86	64	68
	86	96	163	114	111	68	70
	80	81	217	172	165	68	84
	96	97	148	97	114	62	46
	70	73	168	321	104	84	53
P1	90	100	49	45	74	118	121
	129	131	77	129	63	132	45
	110	113	119	73	119	98	121
	40	53	52	45	28	46	74
	41	56	81	35	55	108	267
	36	98	83	64	84	70	74
P2	80	94	177	85	55	101	212
	99	193	118	70	85	144	45
	84	91	72	68	140	94	97
	66	86	144	106	142	157	230
	50	59	55	81	95	80	60
	76	85	77	70	59	86	88
P3	101	122	41	107	55	82	123
	60	68	91	112	106	131	65
	88	108	56	82	95	138	96
	78	97	105	95	70	126	229
	90	107	78	114	95	121	86
	87	116	88	64	44	76	77

Lampiran 2 Analisis Pengaruh Pemberian Terapi Ekstrak Pare (*Momordica charantia*) terhadap Ekspresi CD4 dan CD8 pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium Berghei*

1. Analisis Deskriptif

		Descriptives		
	Kelompok		Statistic	Std. Error
Hasil CD8	Kelompok 1	Mean	5.2367	.50926
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3.9276
			Upper Bound	6.5458
		5% Trimmed Mean	5.2519	
		Median	5.2350	
		Variance	1.556	
		Std. Deviation	1.24742	
		Minimum	3.35	
		Maximum	6.85	
		Range	3.50	
		Interquartile Range	2.04	
		Skewness	-.311	.845
		Kurtosis	-.359	1.741
	Kelompok 2	Mean	3.6183	.36531
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2.6793
			Upper Bound	4.5574
		5% Trimmed Mean	3.5854	
		Median	3.3800	
		Variance	.801	
		Std. Deviation	.89482	
		Minimum	2.65	
		Maximum	5.18	
		Range	2.53	
		Interquartile Range	1.34	
		Skewness	1.151	.845
		Kurtosis	1.354	1.741
	Kelompok 3	Mean	2.1567	.24901
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.5166
			Upper Bound	2.7968
		5% Trimmed Mean	2.1657	
		Median	2.1300	
		Variance	.372	

	Kelompok 4	Std. Deviation	.60994	
		Minimum	1.15	
		Maximum	3.00	
		Range	1.85	
		Interquartile Range	.82	
		Skewness	-.505	.845
		Kurtosis	1.574	1.741
		Mean	1.9167	.10436
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.6484
			Upper Bound	2.1849
		5% Trimmed Mean	1.9213	
		Median	1.8850	
		Variance	.065	
		Std. Deviation	.25563	
		Minimum	1.50	
		Maximum	2.25	
		Range	.75	
		Interquartile Range	.37	
		Skewness	-.508	.845
		Kurtosis	.945	1.741

2. Asumsi Normalitas

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil CD4	.00	.226	6	.200*	.938	6	.646
	.25	.325	6	.047	.835	6	.119
	.50	.206	6	.200*	.933	6	.601
	1.00	.260	6	.200*	.901	6	.377

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	Kelompok Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil CD8	K	.138	6	.200*	.981	6	.955
	P1	.193	6	.200*	.923	6	.528

P2	.251	6	.200*	.941	6	.669
P3	.261	6	.200*	.933	6	.607

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

3. Asumsi Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil CD4	Based on Mean	6.098	3	20	.004
	Based on Median	5.137	3	20	.009
	Based on Median and with adjusted df	5.137	3	15.668	.011
	Based on trimmed mean	6.018	3	20	.004

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil CD8	Based on Mean	3.322	3	20	.041
	Based on Median	2.977	3	20	.056
	Based on Median and with adjusted df	2.977	3	14.760	.066
	Based on trimmed mean	3.227	3	20	.044

4. Uji ONE WAY ANOVA

ANOVA

Hasil CD4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	87.153	3	29.051	10.175	.000
Within Groups	57.100	20	2.855		
Total	144.253	23			

ANOVA

Hasil CD8

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.326	3	14.109	20.198	.000
Within Groups	13.971	20	.699		
Total	56.297	23			

5. Uji Lanjutan Post Hoc Tamhane

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Hasil CD4							
	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tamhane	.00	.25	1.18167	.85707	.736	-1.6335	3.9968
		.50	-.73500	1.25024	.994	-5.0201	3.5501
		1.00	4.25667*	.67822	.005	1.6027	6.9106
	.25	.00	-1.18167	.85707	.736	-3.9968	1.6335
		.50	-1.91667	1.20140	.627	-6.1603	2.3270
		1.00	3.07500*	.58331	.011	.8412	5.3088
	.50	.00	.73500	1.25024	.994	-3.5501	5.0201
		.25	1.91667	1.20140	.627	-2.3270	6.1603
		1.00	4.99167*	1.08110	.030	.5845	9.3988
	1.00	.00	-4.25667*	.67822	.005	-6.9106	-1.6027
		.25	-3.07500*	.58331	.011	-5.3088	-.8412
		.50	-4.99167*	1.08110	.030	-9.3988	-.5845

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Hasil CD8							
	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tamhane	K	P1	1.61833	.62673	.164	-.4776	3.7142
		P2	3.08000*	.56688	.005	1.0540	5.1060
		P3	3.32000*	.51984	.006	1.2262	5.4138
	P1	K	-1.61833	.62673	.164	-3.7142	.4776
		P2	1.46167	.44210	.055	-.0277	2.9510
		P3	1.70167*	.37992	.027	.2204	3.1830
	P2	K	-3.08000*	.56688	.005	-5.1060	-1.0540
		P1	-1.46167	.44210	.055	-2.9510	.0277
		P3	.24000	.26999	.956	-.7529	1.2329
	P3	K	-3.32000*	.51984	.006	-5.4138	-1.2262
		P1	-1.70167*	.37992	.027	-3.1830	-.2204
		P2	-.24000	.26999	.956	-1.2329	.7529

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian

